

# ANNALES

DE

# L'INSTITUT PASTEUR

---

**FÉLIX MESNIL**

(1868-1938)

---

Sur la côte nord du Cotentin, à l'extrême pointe du cap de la Hague, dans le cirque de collines qui encadrent l'anse Saint-Martin, une vallée descendant doucement vers la mer abrite le village d'Omonville-la-Petite. De nombreuses générations de Mesnil y ont cultivé le sol et c'est dans l'une des fermes acquises grâce à leur dur labeur que Félix Mesnil est né le 12 décembre 1868. Après une vie entièrement consacrée au travail, il repose maintenant suivant son désir, dans sa terre natale qu'il a tant aimée.

Rien ne le prédestinait à une carrière scientifique sinon les dispositions précoces qu'il montra dès l'école primaire puis au collège de Cherbourg. Un de ses oncles, médecin de la Marine, dirige ses études et l'oriente vers le lycée Saint-Louis à Paris. Admis en 1887 à l'Ecole Polytechnique et à l'Ecole Normale Supérieure, Mesnil opte pour celle-ci et, en 1891, passe brillamment le concours de l'Agrégation des Sciences Naturelles. Pendant un an, il fait un voyage d'études en Europe centrale et séjourne en particulier dans le laboratoire de Richard Hertwig. En 1892, il entre à l'Institut Pasteur. Deux années durant, il est secrétaire de Pasteur, tout en travaillant dans le laboratoire d'Elie Metchnikoff où il élabore sa thèse pour le Doctorat ès Sciences naturelles sur l'immunité chez les vertébrés à sang

froid. Il devient, en 1907, le Chef du service, nouvellement créé, de microbiologie coloniale qu'il dirigea jusqu'à la veille de sa mort, survenue brutalement à Paris, le 15 février 1938.

Elève d'Alfred Giard, Félix Mesnil fut, par sa formation première, un zoologiste. Sous la direction de Metchnikoff et grâce à l'enseignement de Roux, dans une certaine mesure aussi à sa collaboration avec Laveran, il devint protozoologiste et microbiologiste. Ainsi s'expliquent les sujets et les tendances de ses recherches, l'intérêt et la diversité de son œuvre. A Paris, à l'Institut Pasteur, il est microbiologiste. Mais chaque année, aux vacances, il retourne vers l'anse Saint-Martin ; il y entraîne son camarade d'Ecole, Maurice Caullery, devenu, entre temps, son beau-frère. Là-bas, la côte, découpée, est bordée d'une ceinture de rochers granitoïdes ou schisteux. Dans leurs anfractuosités, à marée basse, persistent des mares tapissées par l'enduit violacé d'une algue calcaire *Lithothamnion polymorphum* qui abrite une faune très particulière. Curieux et instruits, les deux jeunes chercheurs regardent et découvrent. Telle fut l'origine d'une longue et fraternelle collaboration à laquelle on doit une grande partie des travaux relatifs à la zoologie et à la parasitologie qui sont analysés ici.

Voici comment Mesnil a défini le caractère de ses recherches sur les Annélides : « Prendre un groupe de formes ayant une unité bien nette ; y préciser la séparation des espèces, rétablir autant que possible leur phylogénie par un examen critique de leurs caractères différentiels, baser toute cette étude sur des données d'anatomie comparée et d'embryogénie. » Pour lui, la systématique n'est pas un but, mais un moyen d'aborder les problèmes généraux de l'espèce, du transformisme, de l'adaptation.

C'est ainsi qu'il a consacré une longue étude à la vaste famille des Spionidiens. Puis, l'étude du polymorphisme évolutif des Annélides le mène à la constatation imprévue, chez une famille d'Annélides strictement tubicoles, de formes « épitoques » : le Cirratulien *Dodecaceria concharum*, avec ses formes atokes ne présentant que des femelles à œufs parthénogénétiques et ses deux formes épitoques dont l'une possède des mâles et des femelles, devient célèbre parmi les zoologistes. Ce travail est l'occasion d'une série d'observations fondamentales sur la

maturation des produits sexuels, le rôle des phagocytes dans l'évolution des réserves et, — le parasitologue ne perd jamais ses droits —, sur le cycle évolutif d'une Grégarine, *Gonospora*, qui est lié au cycle sexuel de l'hôte.

Pour le biologiste qui s'intéresse aux problèmes de l'évolution, le domaine du parasitisme constitue un champ d'étude très attirant. Mesnil, par ses goûts, sa formation et l'influence exercée sur lui par l'exemple de Giard, devait tout naturellement être amené à entreprendre des recherches sur les formes parasites, recherches favorisées et facilitées par la richesse exceptionnelle des « mares à *Lithothamnion* ». L'étude de l'*Hemioniscus balani* (Crustacé Isopode) conduit à la découverte de l'hermaphrodisme protandrique de cet Epicaride. Puis, c'est une série de travaux, aujourd'hui classiques, sur l'*Ancyroniscus*, le *Xenocoeloma*, les *Fecampia* et, surtout, sur le cycle des Orthonectides.

Mais Félix Mesnil, quelle que soit l'importance de son œuvre zoologique, a été avant tout un protozoologiste, l'un de ceux qui ont le mieux assuré le rayonnement de l'école protistologique française. Ses travaux sur les Sporozoaires et les Cnidiés sont classiques. On lui doit la découverte de la schizogonie des Grégarines, l'étude comparative des modalités de leur parasitisme, l'établissement du rôle de l'épimérite et le premier exemple d'action hypertrophiante sur la cellule-hôte. En matière de coccidiomorphes, il a découvert une espèce à cycle extracellulaire et démontré la sensibilité du chimpanzé au *Plasmodium vivax*. Surtout, dès 1899, il avait compris et clairement indiqué les affinités des Hémosporidies, — et en particulier de l'hématozoaire du paludisme — et des Coccidies. Il faut ajouter la découverte de la sexualité des Actinomyxidies qui se fait par copulation anisogamique, cycle d'autant plus difficile à établir qu'il présente une particularité unique : la partie germinale se développe en dehors de l'enveloppe de la spore où elle pénètre brusquement à la fin du processus de maturation ; la mise en évidence de très nombreuses formes nouvelles, entre autres, les Haplosporidies, les *Siedleckia* et les *Metchnikovellidæ*.

La maîtrise morphologique de Mesnil s'est encore affirmée dans la question difficile de la position systématique des Spiro-

chètes : dès 1901, la nature bactérienne du prétendu trypanosome de la tige cristalline des huîtres est reconnue et ainsi se trouve résolu le problème des affinités des Spirilles et des Spirochètes.

La rencontre de Laveran et de Mesnil, du médecin et du biologiste, est le point de départ de recherches sur les Trypanosomes que Mesnil devait continuer avec ses élèves, les médecins des troupes coloniales Rouget, Brimont, Ringenbach, Blanchard, Bourret, André et Marcel Leger et Lebœuf. La structure des Trypanosomes est étudiée, les constituants de l'appareil flagellaire homologués à leurs équivalents chez les autres flagellés et les spermatozoïdes. Des types nouveaux sont découverts : les *Endotrypanum* et les Trypanoplasmes. L'étude de l'infection du rat par *Trypanosoma lewisi* est suivie de celle des trypanosomiasés expérimentales à *T. brucei*. La question de l'adaptation aux diverses espèces animales est envisagée. L'agglutination des trypanosomes par les sérums normaux ou spécifiques est mise en évidence avec ce caractère si particulier de la conservation de la mobilité. Le difficile problème de l'identification des trypanosomes reçoit sa solution par l'épreuve de l'immunité active croisée, communément appelée aujourd'hui épreuve de Laveran et Mesnil. Le pouvoir trypanocide et le pouvoir protecteur du sérum humain vis-à-vis des trypanosomes des animaux sont découverts. Mais le microbiologiste n'a pas effacé le zoologiste et Mesnil établit l'absence de relation entre l'activité des sérums et la parenté zoologique des espèces, primates et singes divers. Toutes ces données nouvelles sont appliquées à l'étude du *Trypanosoma rhodesiense* dont les caractères distinctifs d'avec *T. gambiense* sont bien mis en évidence.

La question de la résistance aux sérums conduit à l'étude de la variation des trypanosomes et à l'obtention expérimentale de races séro-résistantes qui conservent leurs propriétés par passages sur animaux. Enfin, le traitement des trypanosomiasés est abordé et chacun se souvient de la fructueuse collaboration avec Maurice Nicolle qui en 1906, à l'aube de la chimiothérapie, conduisit, par l'étude des couleurs de benzidine, à la découverte de l'activité du trypanobleu. Des lois relatives aux liens entre la constitution chimique et la valeur théra-

peutique sont formulées : importance de la base diazotée ben-zidinique, de la chaîne naphthalénique, des groupes  $\text{SO}_3\text{H}$  et  $\text{NH}_2$ . La valeur de l'atoxyl pour le traitement des infections à *Trypanosoma gambiense* est établie.

Tout ce qui précède montre assez à quel point Mesnil était qualifié pour donner, avec Laveran, la première synthèse de la question des maladies à protozoaires : le classique traité des *Trypanosomes et Trypanosomiasés* dont les deux éditions virent le jour en 1904 et en 1912.

Félix Mesnil a abordé avec fruit de nombreux sujets et il ne saurait être question ici de citer tous ses travaux, mais on ne peut cependant passer sous silence ses recherches sur la digestion intracellulaire et sur les diastases des Actinies et des Paramécies, sur la toxine des Sarcosporidies, la sarcocystine, dont il établit l'action spécifique pour le lapin.

Au cours de cet exposé, le mot découverte est revenu bien souvent. Pourtant, on se ferait une idée incomplète de l'œuvre de Mesnil si l'on se bornait à en résumer la partie écrite. Son influence sur la médecine coloniale a été considérable : de 1895 à 1910, pendant la période héroïque de la protistologie exotique, il a formé de nombreux élèves : les médecins du Corps de Santé des Troupes coloniales qui viennent s'initier à ses côtés à la protozoologie. Il les accueille dans son laboratoire, les guide dans leurs travaux, entretient avec eux une précieuse correspondance. Il est le conseiller des missions scientifiques en Afrique. On peut dire qu'il est l'un de ceux qui ont le plus contribué à édifier sur des bases scientifiques la médecine coloniale française. De cette activité, entre autres monuments durables, il reste l'Institut Pasteur de Brazzaville et la Société de Pathologie exotique qu'il contribua à créer et à la vie desquels il ne cessa d'apporter son inlassable dévouement.

Pour le *Bulletin de l'Institut Pasteur*, qu'avec quelques-uns de ses collègues il avait fondé en 1903 et qui fut en grande partie son œuvre, il dépouillait et résumait maints travaux de microbiologie. Son érudition prodigieuse — sa mémoire était légendaire — était mise à profit par ses élèves et ses amis. Il se plaisait à indiquer très libéralement aux uns et aux autres les rapprochements qui s'imposaient entre tel et tel problème ou la direction qu'il convenait de donner à un travail. Il avait

suivi avec un intérêt tout particulier l'enchaînement des découvertes sur le cycle évolutif des parasites et il avait accoutumé de distinguer dans son enseignement, soit au cours de l'Institut Pasteur, soit dans son laboratoire, deux catégories d'organismes sanguicoles : ceux qui sont inoculés à l'hôte vertébré par un « acte physiologique » de l'hôte invertébré, la piqure par exemple, ceux qui ne gagnent le torrent circulatoire qu'en vertu d'un « accident » : blessure ou ingestion du transmetteur. En disciple de Metchnikoff, il insistait sur ces disharmonies et sur ce qu'il appelait « l'absurdité de la nature ».

Au cours de sa longue carrière, les honneurs ne lui ont pas manqué. Félix Mesnil fut membre de l'Académie des Sciences, de l'Académie de Médecine et de nombreuses Sociétés françaises et étrangères.

En 1920, il reçut la Médaille Mary Kingsley de l'Ecole de médecine tropicale de Liverpool « in recognition of distinguished scientific achievement ». En 1926, son ami Wenyon, qui fut son élève, lui dédiait son magistral *Traité de Protozoologie*, précieux hommage auquel il fut très sensible.

De tous ces honneurs, Félix Mesnil ne tirait aucune vanité.

Tous ceux qui l'ont approché se souviendront des qualités précieuses qui lui valurent de nombreuses et solides amitiés. Libéral, il ne s'embarrassait d'aucun préjugé et se dévouait entièrement à une cause, pourvu qu'elle lui parût juste. Accessible et bon, il était le conseiller et l'appui de beaucoup, et en particulier des jeunes dont il aimait à s'entourer et à encourager les efforts. Loyal et sûr, il a été celui dont on a pu dire qu'il tenait toujours plus qu'il n'avait promis. Il recevait de fréquents témoignages d'admiration et de respect ; mais il disait souvent : « Je ne veux pas de respect, je veux de l'affection ». Ses désirs sont exaucés : nombreux sont ceux qui, apprenant sa mort, comme des enfants, ont pleuré.

Félix Mesnil eut un seul souci : servir la science, une grande fierté : appartenir à l'Institut Pasteur.

L'Institut Pasteur s'honore de l'avoir compté parmi ses collaborateurs. Les innombrables témoignages de regrets reçus au lendemain de sa disparition font encore mieux mesurer aux Pastoriens qui partagent aujourd'hui le deuil de Madame Mesnil l'étendue de la perte qu'ils ont subie.

**DIMENSIONS APPROXIMATIVES  
DES ULTRAVIRUS ET DES BACTÉRIOPHAGES  
D'APRÈS LES DONNÉES FOURNIES  
PAR L'ULTRAFILTRATION**

par

M. PAÏC et D. KRASSNOFF  
(pour la partie physique).

et P. HABER, L. REINIÉ et J. VOET  
(pour la partie microbiologique  
et expérimentale).

*(Travail du Service des Ultravirus, Institut Pasteur,  
et du Service de M. LEVADITI, Institut Alfred-Fournier  
[Laboratoire de Physique, M. PAÏC.]*

**A. — Introduction et historique.**

(C. LEVADITI.)

Dès que Elford eut précisé la technique de l'ultrafiltration à travers des membranes en collodion de porosités mesurables (diamètre moyen de pores  $d$ ) et, avec ses collaborateurs, appliqué cette technique au calcul des dimensions des ultravirus et des bactériophages, nous avons estimé qu'il était utile de vérifier les données recueillies par le savant anglais. Grâce au concours matériel que l'Institut Pasteur et son Directeur, M. le D<sup>r</sup> Louis Martin, ont bien voulu nous accorder, grâce aussi aux installations du Laboratoire de physique de l'Institut Alfred Fournier (dirigé par M. M. Païc), nos collaborateurs M. Païc et D. Krassnoff pour la partie physique, P. Haber, L. Reinié et J. Voet pour la partie microbiologique et expérimentale, ont entrepris des recherches sur ce sujet. La plupart de ces recherches, lesquelles, dans leur ensemble, confirment, en général, les évaluations d'Elford et de ses collaborateurs, de même que celles des auteurs ayant étudié le problème indépendamment de lui, ont été relatées dans des notes pré-

sentées à la Société de Biologie de 1936 à 1937. Nous désirons réunir, dans le présent Mémoire, les données enregistrées, non sans insister, au préalable, sur les travaux ayant précédé ceux d'Elford.

# I. — ULTRAFILTRATION DES INFRAGERMES (1).

Les premiers résultats positifs, obtenus dans ce domaine, sont ceux relatés par Andriewsky (2), d'une part, par Levaditi et Nicolau (3), Zinsser et Tang (4), d'autre part.

Après avoir rappelé que le virus de la peste aviaire peut être cultivé *in vitro* jusqu'à la dixième génération [Marchoux (5), Landsteiner (6)], Andriewsky essaye l'ultrafiltration de ce virus à travers des membranes en collodion de perméabilité différente [méthode de Bechhold (7)], et dont le diamètre des pores est évalué par avance [Bechhold (8)]. Furent utilisées les membranes 3 à 6, les numéros de ces membranes indiquant la quantité de fulmi-coton p. 400 dissous dans l'acide acétique glacial (imbibition du papier-filtre). Voici les résultats enregistrés :

1° *Filtre n° 3.* — Laisse passer le virus de la *peste aviaire* (sérum de poule malade, dilué à 1/15 ou à 1/20), arrête l'hémoglobine, le filtrat contenant des traces appréciables de matières protéiques coagulables par la chaleur et donnant une réaction du biuret positive ;

2° *Filtre n° 5.* — Passage du virus de la *peste aviaire*, mais arrêt de l'hémoglobine. Le liquide filtré ne réagit plus avec le réactif du biuret et ne précipite que très faiblement en présence du sulfate d'ammonium ;

(1) Extrait, en partie, de notre article : Les Ultravirus. Caractères généraux, leur comportement, leur nature, du « *Traité des ultravirus des maladies humaines* », de Levaditi et Lépine, 1, 1937, Maloine, éditeur.

(2) ANDRIEWSKY. C. R. Soc. Biol., 77, 1914, p. 44.

(3) LEVADITI et NICOLAU. C. R. Acad. Sciences, 176, 1923, p. 717.

(4) ZINSSER et TANG. Journ. of exp. Med., 46, 1927, p. 357.

(5) MARCHOUX. C. R. Acad. Sciences, 147, 1908, p. 357.

(6) LANDSTEINER. Zbl. f. Bakt., 67, 1913, p. 165.

(7) BECHHOLD. Die Kolloide in der Biologie und Medizin, 1912.

(8) BECHHOLD. Zeit. f. physik. Chem., 64, 1908, p. 257.

3° *Filtres n°s 6 à 8.* — Pas d'ultrafiltration du virus de la peste aviaire, ni de séro-albumine ou de séro-globuline.

4° Les expériences entreprises avec les membranes 4 à 5, montrent que les ultrafiltrats ne sont plus actifs, dès que l'acide sulfosalicylique ne fait plus apparaître d'anneau blancâtre, et que la réaction avec le réactif d'Esbach et l'acide nitrique concentré est négative.

Andriewsky attache une grande importance à l'arrêt de l'hémoglobine par des membranes que l'ultravirus traverse. Connaissant la taille approximative de la molécule d'hémoglobine [2,3 à 2,5 m $\mu$ . Zsigmondy (9)], l'auteur conclut que le colloïde, virus de la peste aviaire, est formé de molécules plus petites que celles de l'hémoglobine, c'est-à-dire inférieures à 2,3-2,5 m $\mu$ . Nous verrons, par la suite, que cette conclusion est à modifier, attendu qu'Andriewsky ne tient pas suffisamment compte de l'intervention du phénomène de l'adsorption dans la non-traversée des membranes par l'hémoglobine.

Les essais d'ultrafiltration des *ultravirus neurotropes* et du *bactériophage*, relatés en 1923 par Levaditi et Nicolau (*loc. cit.*), ont été réalisés d'après la méthode des sacs en collodion. Les auteurs se sont servis de collodion Poulenc à 6 p. 100 [cellulose octonitrique : 6 ; alcool à 95° : 47 ; éther rectifié : 47 (en poids)]. L'émulsion cérébrale virulente (1 gramme pour 20 centimètres cubes d'eau salée isotonique), était clarifiée par centrifugation. Pression intérieure du sac : 10 à 12 cent. cubes de mercure.

PERMÉABILITÉ DES MEMBRANES. — Des essais préalables ont montré qu'une telle émulsion de cerveau, contenant environ 1 gr. 5 de matières protéiques par litre, fournissait des filtrats dépourvus de protéines, décelables par la chaleur ou par l'acide trichloracétique. Un sérum hémolytique lapin-antimouton, actif au millième, donnait des ultrafiltrats dépourvus de sensibilisatrice, mais renfermant près de 1/1.000 d'albumine. Les peptones et l'acide acétyl-aminé passaient aisément, alors que le suc pancréatique réactivé, l'alexine de cobaye, les toxines diphtérique et tétanique étaient retenus, en majeure partie, sinon en totalité. Les auteurs montraient, en outre, que le *bactériophage anti-Shiga* traversait ces ultrafiltres, ce qui était en accord avec les constatations de Wollman (10), concernant l'ultradialyse de l'agent lytique.

(9) ZSIGMONDY. *Kolloidchemie*, Leipzig, 1912, p. 267.

(10) WOLLMAN. *C. R. Soc. Biol.*, 84, 1922, p. 3.

En résumé, les membranes dont se sont servis Levaditi et Nicolau, *peu perméables aux matières protéiques, ont laissé passer les peptones et les acides aminés, et ont retenu, plus ou moins complètement, la sensibilisatrice, l'alexine, certains ferments solubles et les toxines microbiennes. Elles ne se sont pas opposées au passage du bactériophage.*

Dans ces études de la perméabilité des membranes en collodion, certains phénomènes de rétention sont, évidemment, attribués plus à l'adsorption, qu'aux rapports entre les dimensions des pores et le diamètre moyen des particules, ou des suspensions colloïdales soumises à l'ultrafiltration.

Quoi qu'il en soit, Levaditi et Nicolau établissent l'ultrafiltrabilité du *virus rabique des rues* (1 résultat positif sur 5 essais), du *virus herpéto-encéphalitique* [souche Carnot] (1 résultat positif sur 6 essais), du *virus herpétique* (1 succès sur 4 tentative), et du *virus neurovaccinal* (7 résultats positifs sur 8 expériences). « L'ensemble de ces recherches, écrivent les auteurs, prouve que tous les ultravirus neurotropes examinés (rage, encéphalite, herpès, neurovaccin) filtrent, sous pression, à travers certaines membranes en collodion. Toutefois, leur filtration varie non seulement d'une membrane à l'autre, mais encore suivant la nature du virus. Le neurovaccin s'est révélé, en effet, plus filtrable que les germes de la rage, de l'encéphalite et de l'herpès ».

Levaditi et Nicolau essayent de préciser les raisons de ces différences. Ils pensent les trouver : 1° dans l'inégalité des dimensions des unités virulentes de chaque ultravirus neurotrophe ; 2° dans la diversité de leur pouvoir pathogène, en d'autres termes, dans le nombre minimum de ces unités virulentes capables de conférer la maladie à l'animal. Etant donné que le virus neurovaccinal est encore actif à 1/500.000, en injection intranévraxique, alors que l'ultragerme rabique est apparemment inoffensif à cette concentration, « il en résulte qu'un filtrat d'émulsion vaccinale paraîtra actif, alors qu'un filtrat d'émulsion rabique ou de virus herpétique, contenant le même nombre d'éléments virulents, ne le paraîtra pas. La perméabilité des membranes en collodion est très restreinte ; au cours des opérations de filtration, il se produit un colmatage qui la réduit encore davantage ».

Et de conclure : « *La filtration partielle des ultravirus neurotropes à travers certaines membranes en collodion, rapprochée d'autres propriétés physiques, d'ordre colloïdal, montre que ces ultravirus sont constitués par des agrégats de matières protéiques vivantes, dont les dimensions ne semblent pas s'éloigner de celles des agrégats albuminoïdes qui servent de support aux propriétés diastasiques ou aux toxines microbiennes.* »

Ainsi, dès 1923, Levaditi et Nicolau formulent les principes fondamentaux qui constitueront, par la suite, le *credo* de l'ultrafiltration des ultravirus et des bactériophages, de même que celui de la nature probable des ultragermes, soit :

1° *L'ultrafiltrabilité en rapport avec les dimensions des unités virulentes ;*

2° *L'ultrafiltrabilité en relation avec le pouvoir pathogène ;*

3° *L'ultrafiltrabilité en fonction du colmatage ;*

4° *La nature des ultravirus neurotropes, en tant qu' « agrégats de matière protéique vivante ».*

Les recherches relatées depuis ont confirmé ces conclusions. Les premières en date sont celles de Zinsser et Tang ; elles furent réalisées grâce à une technique spéciale. Les auteurs insistent sur la possibilité d'un enrobage de l'unité pathogène par des substances appartenant à l'organe même où elles ont pullulé (adsorption). L'ultrafiltration du virus de l'herpès, du virus du sarcome de Rous et du bactériophage staphylococcique, a été effectuée à des  $\text{pH} = 7,2$ . L'agent lytique et le virus du sarcome de Rous ultrafiltrent à travers des membranes qui retiennent le trisulfure d'arsenic, alors que le virus herpétique ne passe qu'irrégulièrement (2 résultats positifs sur 7 essais). Voici, par ailleurs, l'échelle de taille indiquée par Zinsser et Tang :

Echelle de taille de Zinsser et Tang :

Albumine d'œuf cristallisée ;  
Trypsine ;  
Caséine ;  
Trisulfure d'As. ;  
Sarcome de Rous. ;  
Bactériophage.

Ajoutons qu'en 1926, Levaditi, Nicolau et Galloway (11) démontrent l'ultrafiltrabilité du virus de la *fièvre aphteuse* à travers des membranes en collodion, en se servant d'une souche virulente pour le revêtement cutané de la patte du cobaye [Waldmann et Pape (12)] et de sacs en collodion à 3 couches (vitesse de passage des gouttes, à la pression de 10 à 12 centimètres mercure : deux, deux un quart, trois, quatre et cinq minutes). Ils ont obtenu 8 résultats positifs sur 9 tentatives, résultats qui ont été confirmés, l'année d'après, par Olitsky et Boëz (13), au laboratoire de Borrel.

Ce sont là les constatations, riches en déductions théoriques, que nous devons à ces pionniers des recherches sur l'ultrafiltrabilité des ultragermes et des bactériophages. Le passage à travers des membranes en collodion de perméabilité inégale, le rôle des variations des grandeurs respectives des éléments pathogènes, l'influence du degré de la virulence et du colmatage, la nature « vivante » des particules qui représentent les ultravirus, sont autant de notions que les recherches récentes, réalisées sur une plus grande échelle et avec des moyens autrement ingénieux, ont confirmées et complétées.

## II. — DIMENSIONS DES ULTRAVIRUS ET DES BACTÉRIOPHAGES CALCULÉES D'APRÈS LA MÉTHODE DE L'ULTRAFILTRATION.

Nous n'envisagerons ici que les ultravirus et les bactériophages que nous avons étudiés nous-mêmes des exposés d'ensemble de cette question ayant été faits ailleurs (Cf. *Les Ultravirus des maladies humaines*, de Levaditi et Lépine. Articles de Levaditi, de Gratia et de Galloway, *loc. cit.*). Afin que leur énumération soit à la fois logique et aussi peu fastidieuse que possible, nous adopterons un classement suivant les affinités tissulaires des ultragermes.

(11) LEVADITI, NICOLAU et GALLOWAY. *C. R. Acad. Sciences*, **182**, 1926, p. 247.

(12) WALDMANN et PAPE. *Tier. Woch.*, **37**, 1921, p. 449.

(13) OLITSKY et BOËZ. *Journ. of exp. Med.*, **45**, 1927, p. 685.

a) *Ectodermoses.*

(Epithélioses de Borrel)

1° FIÈVRE APTEUSE. — Galloway et Elford (14). Dimensions des unités virulentes : 8 à 12 mμ ; Krassnoff et Reinié (15). Dim. : 8 à 12 mμ.

2° STOMATITE VÉSICULEUSE (maladie analogue à la fièvre aphteuse, provoquée par un virus isolé par Cotton, Olitsky et ses collaborateurs). — Galloway et Elford (16). Dim. : 70 à 100 mμ. Levaditi, Païc, Krassnoff et Voet (17). Dim. : 60 à 90 mμ. Bauer et Cox (18). Dim. : 70 à 100 mμ.

3° VACCIN JENNÉRIEN. — Elford et Andrewes (19). Dim. : 125 à 175 mμ. Levaditi, Païc et Krassnoff (20). Dim. : 140 à 160 mμ.

b) *Mésodermo-endodermoses.*

PESTE AVIAIRE. — Elford et Todd (21). Dim. : 60 à 90 mμ. Levaditi, Païc, Haber et Krassnoff (22). Dim. : > que 100 à 150 mμ pour le virus de la peste aviaire type, ou pour la souche pathogène pour la souris (Doerr, Seidenberg, Withman, Collier, Jansen et Nieschultz).

c) *Ectodermoses neurotropes.*

1° HERPÈS. — Elford, Perdrau et Smith (23). Dim. : 100 à 150 mμ. Levaditi, Païc et Krassnoff (24). Dim. : 100 à 300 mμ.

(14) GALLOWAY et ELFORD. *Brit. J. exp. Pathol.*, **12**, 1931, p. 407.

(15) KRASSNOFF et REINIÉ. *C. R. Soc. Biol.*, **124**, 1937, p. 619.

(16) GALLOWAY et ELFORD. *Brit. J. exp. Pathol.*, **14**, 1933, p. 400.

(17) LEVADITI, PAÏC, KRASSNOFF et VOET. *C. R. Soc. Biol.*, **122**, 1936, p. 619.

(18) BAUER et COX. *Proc. Soc. exp. Biol. Med.*, **32**, 1935, p. 507.

(19) ELFORD et ANDREWES. *Brit. J. exp. Pathol.*, **13**, 1932, p. 36.

(20) LEVADITI, PAÏC et KRASSNOFF. *C. R. Soc. Biol.*, **122**, 1936, p. 562.

(21) ELFORD et TODD. *Brit. J. exp. Pathol.*, **14**, 1933, p. 240.

(22) LEVADITI, PAÏC, HABER et KRASSNOFF. *C. R. Soc. Biol.*, **122**, 1936, p. 1021.

(23) ELFORD, PERDRAU et SMITH. *J. of. Path. and Bact.*, **36**, 1933, p. 49.

(24) LEVADITI, PAÏC et KRASSNOFF. *C. R. Soc. Biol.*, **121**, 1936, p. 505.

2° RAGE (virus fixe). — Galloway et Elford (25). Dim. : 100 à 150 m $\mu$ . Yaoi, Kanazawa et Sato (26). Dim. : 100 à 150 m $\mu$ . Levaditi, Païc et Krassnoff (27). Dim. : 160 à 240 m $\mu$ .

3° POLIOMYÉLITE. — Theiler et Bauer (28). Dim. : 12 à 17 m $\mu$ . Elford, Galloway et Perdrau (29). Dim. : 8 à 12 m $\mu$ . Clifton, Schultz et Gebhardt (30). Dim. : 50 m $\mu$ . Levaditi, Kling, Païc et Haber (31). Dim. : 15 m $\mu$ .

d) *Mésodermoses.*  
(réticulo-endothélioses)

a) MALADIE DE NICOLAS-FAVRE (Lymphogranulomatose inguinale). — Miyagawa, Mitamura, Yaoi, Ishii et Okanishi (32). Dim. : 150 à 200 m $\mu$ . Broom et Findlay (33). Dim. : 125 à 175 m $\mu$ . Levaditi, Païc et Krassnoff (34). Dim. : 100 à 140 m $\mu$ .

ULTRAFILTRATION DES BACTÉRIOPHAGES.

Wollman (35) a montré, en 1921, que le bactériophage dialyse à travers certaines membranes en collodion. L'ultrafiltration a été constatée, une des premières fois, par Stassano et de Beaufort (36), qui ont utilisé des sacs en fulmi-coton dont la perméabilité (diamètre des pores) était évaluée par le passage du nitrate de strychnine (poids moléculaire : 397). Soumis à une pareille filtration, le bactériophage anti-Shiga

(25) *Annual Rep. of the Med. Res. Council*, 1934, p. 40. — GALLOWAY et ELFORD. *J. of Hyg.*, **36**, 1936, p. 532.

(26) YAOI, KANAZAWA et SATO. *The Japan J. exp. Med.*, **14**, 1936, p. 73.

(27) LEVADITI, PAÏC et KRASSNOFF. *C. R. Soc. Biol.*, **123**, 1936, p. 866.

(28) THEILER et BAUER. *J. exp. Med.*, **60**, 1934, p. 767.

(29) ELFORD, GALLOWAY et PERDRAU. *J. of Path. and Bact.*, **40**, 1935, p. 135.

(30) CLIFTON, SCHULTZ et GEBHARDT. *Journ. of Bact.*, **22**, 1931, p. 7.

(31) LEVADITI, KLING, PAÏC et HABER. *C. R. Acad. Sciences*, **203**, 1936, p. 899.

(32) MIYAGAWA, MITAMURA, YAOI, ISHII et OKANISHI. *Jap. J. exp. Med.*, **13**, 1935, p. 723.

(33) BROOM et FINDLAY. *Brit. J. exp. Pathol.*, **17**, 1936, p. 135.

(34) LEVADITI, PAÏC et KRASSNOFF. *C. R. Soc. Biol.*, **123**, 1936, p. 1048.

(35) WOLLMAN. *C. R. Soc. Biol.*, **84**, 1925, p. 3.

(36) STASSANO et DE BEAUFORT. *C. R. Soc. Biol.*, **93**, 1925, p. 1378.

fournissait des filtrats lytiques « sans rien perdre de son activité ». Et de conclure qu'il « faudrait imaginer l'existence d'un tout nouvel ordre d'êtres vivants, l'ordre des êtres non colloïdaux, à molécules encore plus petites que celles du nitrate de strychnine ». Sans oublier les essais de d'Hérelle (37), insistons tout particulièrement sur ceux de Wollman et Suarez (38). Ces auteurs se sont servis de filtres préparés d'après la technique de Bechhold. Ils ont réussi l'ultrafiltration du bactériophage Shiga à travers des membranes en collodion acétique à 7 p. 100, membranes qui retenaient l'hémoglobine et les protéines sériques (épreuve de l'hémoglobine par la spectroscopie ; celles des matières protéiques, par l'acide azotique et le choc anaphylactique). L'agent lytique ultrafiltre dans la proportion de  $\frac{1}{3}$  de son activité initiale. Les membranes en collodion à 10 p. 100 ne permettent la traversée que de très rares éléments actifs. Wollman et Suarez estiment que le bactériophage est lié à la présence de traces de protéines dans le filtrat ; en effet, il suffit de concentrer celui-ci par une seconde ultrafiltration sur une membrane en collodion à 10 p. 100, pour constater que la réaction des albumines devient très apparente.

\*  
\* \*

Ultérieurement, des recherches fort intéressantes ont été effectuées dans ce domaine, entre autres par Burnet (39) et par Yaei et Sato (40) [ultrafiltration et dimensions approximatives des phages appartenant au groupe *coli*-dysentérique et typhique], recherches qui ont rendu évidente la pluralité des agents lytiques du point de vue de leurs dimensions

\*  
\* \*

Ainsi, la méthode d'Elford, appliquée à l'ultrafiltration des ultravirus et des bactériophages, et, indirectement, à l'éva-

(37) D'HÉRELLE. *C. R. Soc. Biol.*, **93**, 1925, p. 509.

(38) WOLLMAN et SUAREZ. *C. R. Soc. Biol.*, **96**, 1927, p. 55.

(39) BURNET, dans BURNET et ANDREWES. *Zbl. f. Bakt.*, **130**, 1933, p. 170.

(40) YAEI et SATO. *The Japan J. exp. Med.*, **43**, 1935, p. 565.

luation des dimensions approximatives de ces corpuscules élémentaires pathogènes ou lytiques, a rendu d'insignes services quant à la précision de leur nature et de leur comportement. Ce qui justifie les conclusions formulées récemment par l'un de nous (Levaditi) dans le « *Traité des Ultravirus des maladies humaines* » (*loc. cit.*), conclusions que voici :

« Une vingtaine d'ultravirus, agents pathogènes de certaines maladies infectieuses et contagieuses de l'homme et des animaux, de même que de nombreux bactériophages, ont été ultrafiltrés et mesurés, avec une approximation dont nous aurons à examiner ultérieurement la valeur réelle. Concluons, pour l'instant, que *l'ultrafiltrabilité des ultragermes et des agents lytiques est un fait hors conteste et non des moins significatifs, notamment pour ce qui a trait à la conception de l'individualité et de la pluralité de ces éléments.* »

## B. — Recherches personnelles.

*Technique.* — La technique de la préparation des membranes et de la détermination de leur diamètre moyen des pores *d*) a été celle d'Elford (41), reprise par Bauer et Hugues (42), puis par Grabar (43). Nous y avons apporté quelques légers perfectionnements : découpage des membranes sur plaques d'ébonite, au lieu de plaques de verre, ce qui permet l'emploi du marteau ; utilisation d'un système de robinets (fig. 1), facilitant la mesure de la perméabilité des membranes ; détermination de l'épaisseur des membranes à l'aide d'un « comparateur » couramment utilisé en mécanique de précision, donnant 2/1.000 de millimètre.

Pour la préparation des membranes, nous ne nous sommes pas servis de chambre à température constante, car, au cours de nombreuses expériences, nous avons pu nous rendre compte que la qualité de la membrane ne souffre pas d'une

(41) ELFORD. *Journ. of Pathol. and Bact.*, **34**, 1931, p. 505 ; *Proc. Roy. Soc. biol.*, **112**, p. 384.

(42) BAUER et HUGUES. *Journ. of gen. Physiol.*, **18**, 1934, p. 143.

(43) GRABAR. *C. R. Soc. Biolog.*, **116**, 1934, p. 70 ; *Bull. Soc. Chim. Biolog.*, **17**, 1935, p. 965 et 1245.

légère variation de température (de l'ordre de  $1^{\circ}$  à  $2^{\circ}$ ) pendant l'évaporation. La reproductibilité des membranes, qui, d'ailleurs, est très difficilement réalisable, dépend beaucoup plus d'autres facteurs, en partie malaisés à contrôler, dont le principal nous paraît être l'humidité de l'air.

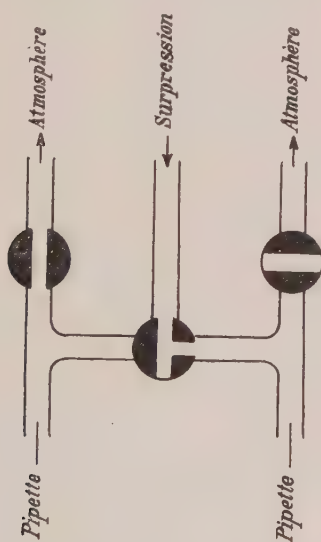


FIG. 1. — Schéma de robinets permettant la distribution de la surpression sur les pipettes reliées à l'appareil de mesure de perméabilité des membranes.

Les appareils ayant servi pour l'ultrafiltration ont été ceux décrits par Grabar (*loc. cit.*).

#### 1° ULTRAVIRUS DE LA FIÈVRE APHTEUSE ET DE LA STOMATITE VÉSICULEUSE.

[M. Païc, D. Krassnoff, J. Voet et L. Reinié (44)].

La première ultrafiltration du virus de la fièvre aphteuse a été réalisée en 1926, par Levaditi, Nicolau et Galloway (45), lesquels ont réussi à ultrafiltrer facilement ce virus à travers

(44) LEVADITI, PAÏC, KRASSNOFF, VOET et REINIÉ. *C. R. Soc. Biolog.*, **122**, 1936, p. 619.

(45) LEVADITI, NICOLAU et GALLOWAY. *C. R. de l'Acad. des Sc.*, **182**, 1926, p. 247.

des sacs en collodion octonitrique (8 résultats positifs sur 9 essais). Ces données ont été confirmées par Olitsky et Boëz (46). Par comparaison avec l'ultrafiltrabilité des particules de collargol et de trisulfure d'arsenic colloïdal, ces auteurs ont conclu que les dimensions des unités virulentes du virus aphteux, seraient entre 20 à 10  $\mu$ . Sans insister sur les recherches de Woodruff (47) [utilisation de membranes de Bechhold], nous rappellerons que la nouvelle méthode d'Elford (48) a été employée dans le même but par Galloway et Elford (49). Ces savants se servent de la lymphe vésiculaire de cobayes inoculés à la patte avec les souches Vallée et Carré O et A, et Waldmann et Trautwein C, souches dont la virulence était de 1/500.000. Ils établissent qu'entre 100 et 60  $\mu$ , les filtrats révèlent une légère diminution de leur activité pathogène, celle-ci s'atténuant rapidement jusqu'à 25  $\mu$ , point final de l'ultrafiltration. Calculé d'après la formule corrective d'Elford, le diamètre de l'unité virulente du virus aphteux serait donc de 8 à 12  $\mu$ , par conséquent intermédiaire entre celui du bactériophage *coli* et celui de l'oxyhémoglobine.

En ce qui concerne le virus de la *stomatite vésiculeuse* (Cf. Cotton, Olitsky et ses collaborateurs), maladie analogue à la fièvre aphteuse, mais dont l'agent pathogène est particulièrement neurotrope, son ultrafiltrabilité et ses dimensions probables furent examinées, à l'aide de la méthode d'Elford, par Galloway et Elford (50). Le point terminal de l'ultrafiltration fut trouvé de 130  $\mu$ , les dimensions probables de 70 à 100  $\mu$ , donc notablement supérieures à celles du virus aphteux. Ces constatations furent confirmées par Bauer et Cox (51).

Ainsi, toutes choses égales (milieu, activité pathogène), deux ultravirus provocateurs de maladies offrant des analogies étroites, se révèlent de dimensions inégales. Nous sommes à

(46) OLITSKY et BOËZ. *Journ. of exper. Med.*, **45**, 1927, p. 685.

(47) WOODRUFF. *Zeitschr. f. Hyg.*, **110**, 1929, p. 618.

(48) ELFORD. *Journ. of Pathol. and Bact.*, **34**, 1931, p. 505.

(49) GALLOWAY et ELFORD. *Brit. Journ. of exper. Pathol.*, **12**, 1931, p. 407.

(50) GALLOWAY et ELFORD. *Brit. Journ. of exper. Pathol.*, **14**, 1933, p. 400.

(51) BAUER et COX. *Proc. Soc. exper. Biol. and Med.*, **32**, 1935, p. 567.

même de confirmer ces données, dont l'importance, en ce qui concerne la valeur de la méthode d'Elford, n'échappe à personne. Voici le résumé de nos recherches :

Nous nous sommes servis de la souche de fièvre aphteuse Vallée A et de la souche de stomatite vésiculeuse « Indiana ». Le liquide vésiculaire, recueilli dans les vésico-pustules de la patte de cobaye, a été dilué au 1/100 avec du milieu de Hartley,

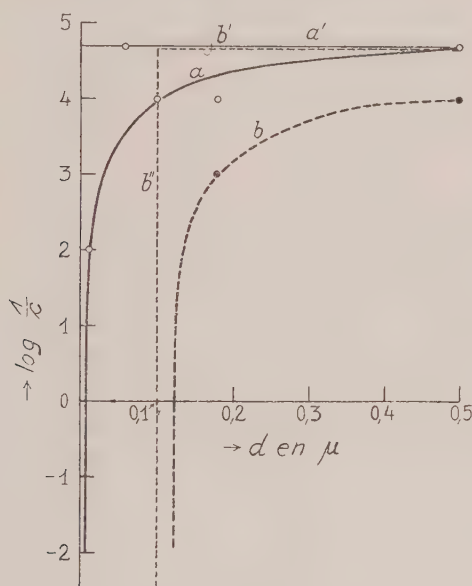


FIG. 2. — Courbe de filtrabilité du virus de la fièvre aphteuse (a) et de celui de stomatite vésiculeuse (b).

puis clarifié par centrifugation rapide et dégrossissement sur papier Chardin. Les titrages ont été réalisés par inoculation intradermique à la patte du cobaye.

Les résultats de l'ultrafiltration sont représentés par la figure ci-jointe (fig. 2), sous forme de courbes de filtrabilité (52). Le graphique montre l'activité de l'ultrafiltrat en fonction du diamètre moyen des pores des membranes. Sur l'axe des ordonnées sont portés les logarithmes des valeurs inverses

(52) Cf. LEVADITI, PAÏC et KRASSNOFF. *C. R. Soc. Biol.*, **121**, 1936, p. 805. *Ibid.*, **122**, 1936, p. 354.

des dilutions maxima virulentes. En désignant la dilution par  $c$ , on a, pour un ultrafiltrat actif au 1/100 :

$$c = \frac{1}{100}, \log. \frac{1}{c} = \log. 100 = 2.$$

Sur l'axe des abscisses sont portés les diamètres moyens  $d$  des pores, en  $\mu$ . Pour chaque courbe on peut dessiner, approximativement, deux asymptotes, l'une parallèle à l'axe des abscisses, l'autre à l'axe des ordonnées. La première de ces asymptotes correspond à l'activité du virus initial non filtré, l'autre correspond à la porosité de la membrane par laquelle le virus ne passe plus. Les courbes correspondant à ces asymptotes (mêmes traits), montrent la variation de la virulence du filtrat entre les deux valeurs extrêmes.

On remarquera que les points terminaux de l'ultrafiltration sont dissemblables (voir ci-après page 239), pour les deux virus, celui de la fièvre aphteuse et celui de la stomatite vésiculeuse. L'ultragerme de la première de ces maladies est arrêté par une membrane d'environ 0,01  $m\mu$ , alors que l'unité virulente de la stomatite vésiculeuse n'est arrêtée que par des pores de dimensions moyennes plus de 10 fois supérieures (0,12  $m\mu$ ). En calculant, d'après Elford, les diamètres des unités virulentes correspondant à ces points terminaux, on obtient des valeurs de 3  $m\mu$  à 5  $m\mu$  pour la fièvre aphteuse, et de 60  $m\mu$  à 90  $m\mu$  pour la stomatite vésiculeuse. La différence entre les dimensions de ces deux virus est, très vraisemblablement, réelle, attendu que tous deux provenaient du même tissu (vésico-pustules de cobayes), qu'ils étaient enrobés dans le même milieu (Hartley), et qu'ils possédaient une virulence initiale presque égale (1/50.000). On a éliminé ainsi les trois facteurs (source tissulaire, milieu et activité pathogène) pouvant fausser les résultats.

Il en ressort que : 1° Les points terminaux de l'ultrafiltration pour le virus de la fièvre aphteuse et pour l'ultragerme de la stomatite vésiculeuse, sont, d'après nos recherches, respectivement de 0,01  $m\mu$  et de 0,12  $m\mu$ .

2° En calculant, d'après la formule correctrice d'Elford, la taille de ces deux virus, on obtient, d'après nos expériences, un diamètre de 3  $m\mu$  à 5  $m\mu$  pour la fièvre aphteuse (Cf. page 243) et de 60  $m\mu$  à 90  $m\mu$  pour la stomatite vésiculeuse. Si les

dimensions de ce dernier ultragerme concordent avec celles trouvées par Elford et Galloway et par Bauer et Cox, par contre nos résultats tendent à conférer au virus aphteux des dimensions plus petites que celles indiquées par nos prédécesseurs.

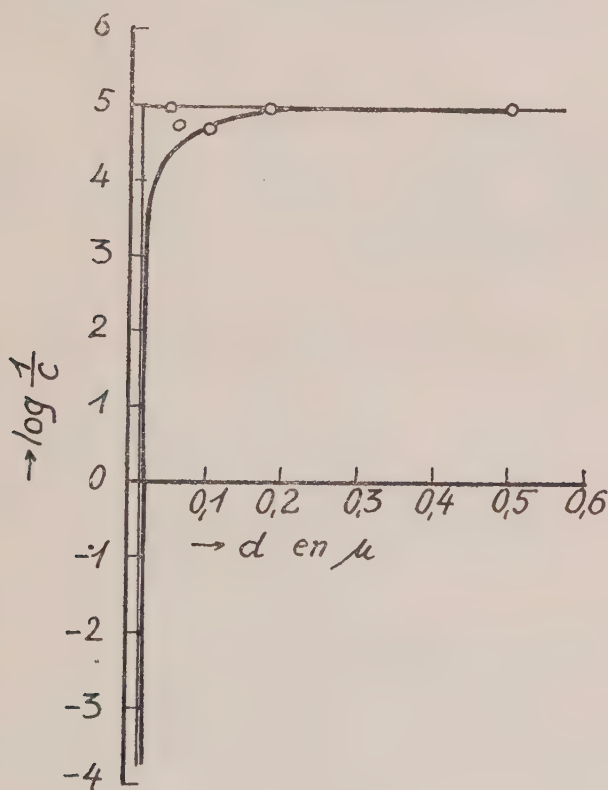


FIG. 3. — Courbe de filtrabilité de la fièvre aphteuse.

3° Les différences de taille relevées par la méthode d'Elford entre les deux germes sont, très vraisemblablement, réelles, attendu que les conditions expérimentales ont été choisies de manière à éliminer les facteurs qui peuvent fausser les calculs, soit : la source du virus, le milieu qui l'enrobe et le degré de son activité pathogène.

\*  
\* \*

Ces conclusions concernant l'infragerme de la fièvre aphteuse étaient basées sur le fait que le filtrat, à travers la

membrane de 0,013  $\mu$ , avait produit des vésiculo-pustules typiques chez un seul des cobayes inoculés. Cette taille de 3 m $\mu$  à 5 m $\mu$  étant quelque peu inférieure à celle indiquée par Gallo-way et Elford (53) [8 m $\mu$  à 12 m $\mu$ ], il nous a paru nécessaire de reproduire l'expérience, en y ajoutant une membrane intermédiaire entre 0,13  $\mu$  et 0,058  $\mu$ , afin de nous mettre dans les conditions les plus voisines de celles des expérimentateurs anglais (54).

L'ultrafiltration est effectuée avec de l'extrait de peau de pustule et du liquide vésiculaire (souche Vallée) dilué au 1/100 dans le milieu de Hartley, centrifugé, puis dégrossi sur un filtre de papier et sable (55).

Voici les données enregistrées :

TABLEAU I.

MEMBRANES	DILUTIONS					
	1/100	1/1.000	1/5.000	1/10.000	1/50.000	1/100.000
Non filtré . . . . .	++++	++++	++++	++	0	Traces.
0 $\mu$ 50 . . . . .	++	++	++++	Traces.	Traces.	+
0 $\mu$ 18 . . . . .	+++	+++	++	++	+	+
0 $\mu$ 10 . . . . .	++++	++++	Traces.	+++	+	0
0 $\mu$ 058 . . . . .	++++	++++	+++	++	++	0
0 $\mu$ 048 . . . . .	+++	++	++	++	Traces.	+
0 $\mu$ 013 . . . . .	00	00	00	00	00	00

D'après le tableau et la courbe ci-jointe (fig. 3), il nous semble pouvoir conclure que le point final de l'ultrafiltration se trouve situé entre 0,048  $\mu$  et 0,013  $\mu$ .

Le virus étant encore actif au 1/100.000 après passage par la membrane de 0,048  $\mu$ , sachant, par ailleurs, que le degré de la virulence d'un ultragerme joue un grand rôle dans les phénomènes d'ultrafiltration [fait signalé par Elford (56) et constaté par Levaditi et ses collaborateurs, en particulier dans leurs expériences sur la lymphogranulomatose inguinale (57)]

(53) ELFORD. *Proc. Roy. Soc. biol.*, **112**, 1933, p. 384.

(54) BARNARD et ELFORD. *Proc. Roy. Soc. biol.*, **109**, 1931, p. 374.

(55) KRASSNOFF et REINIÉ. *C. R. Soc. Biolog.*, **124**, 1937, p. 790.

(56) ELFORD. *Brit. Journ. exp. Pathol.*, **13**, 1932, p. 36.

(57) LEVADITI, PAÏC et KRASSNOFF. *C. R. Soc. Biolog.*, **123**, 1936, p. 1048.

(voir ci-après, page 258), il nous apparaît probable que le point final de filtration est plus voisin de  $0,013 \mu$  que de  $0,048 \mu$ . Il en résulte que la taille du virus aphteux, souche Vallée, est certainement supérieure à  $7 \mu$  et inférieure à  $16 \mu$ , en sorte que ces nouvelles recherches rapprochent nos résultats de ceux relatés par les auteurs anglais ( $8 \mu$  à  $12 \mu$ ).

## 2° VACCIN JENNÉRIEN

*M. Païc, D. Krassnoff et L. Reinié* (58).

L'étude du virus vaccinal par le procédé d'Elford a été réalisée par Elford et Andrewes (59). Rappelons d'abord les essais préliminaires de Levaditi et Nicolau (60) et de Bechhold et Schlesinger (61), ayant précisé, les uns l'ultrafiltrabilité du neurovaccin à travers des sacs en collodion, les autres les dimensions probables de l'unité virulente ( $0,2 \mu$ ). Elford et Andrewes concluent : 1° que la taille du virus vaccinal (neurovaccin de Levaditi et Nicolau passé par le testicule de lapin) est entre  $125 m\mu$  et  $175 m\mu$  ; 2° que la virulence du liquide soumis à la filtration influence manifestement la détermination du point limite de la filtrabilité, en ce sens que plus cette virulence est considérable, plus serrés sont les pores à travers lesquels s'opère la filtration limite.

Nos recherches actuelles ont été effectuées avec la souche neurovaccinale de Levaditi et Nicolau (62), entretenue depuis 1921 par des passages cérébraux effectués sur le lapin. Nous avons utilisé, soit des cerveaux atteints de méningo-encéphalite neurovaccinale, soit des testicules, siège d'orchite provoquée par la même souche de virus. Les extraits ont été préparés dans du milieu de Hartley, et utilisés après centrifugation préalable et dégrossissement sur papier Chardin. En outre, des émulsions testiculaires ont servi à la purification du virus vaccinal suivant la méthode de Kligler (63), purification effec-

- (58) LEVADITI, PAÏC et KRASSNOFF. *C. R. Soc. Biolog.*, **122**, 1936, p. 526.
- (59) ELFORD et ANDREWES. *Brit. Journ. of exp. Pathol.*, **13**, 1932, p. 36.
- (60) LEVADITI et NICOLAU. *C. R. de l'Acad. des Sc.*, **176**, 1923, p. 717.
- (61) BECHHOLD et SCHLESINGER. *Biochem. Zeitschr.*, **236**, 1935, p. 387.
- (62) LEVADITI et NICOLAU. *Ces Annales*, **37**, 1923, p. 1.
- (63) KLIGLER. *Proceed. of Soc. exper. Biol. and Med.* **32**, 1934, p. 222.

tuée par les soins de M<sup>llo</sup> V. Deutsch. Le titrage de la virulence a été fait par injections intradermiques de dilutions progressives (lapin), et aussi par inoculations transcraniennes.

RÉSULTATS — Les résultats sont représentés dans la figure 4 ci-jointe sous forme de courbes de filtrabilité. Sur l'axe des

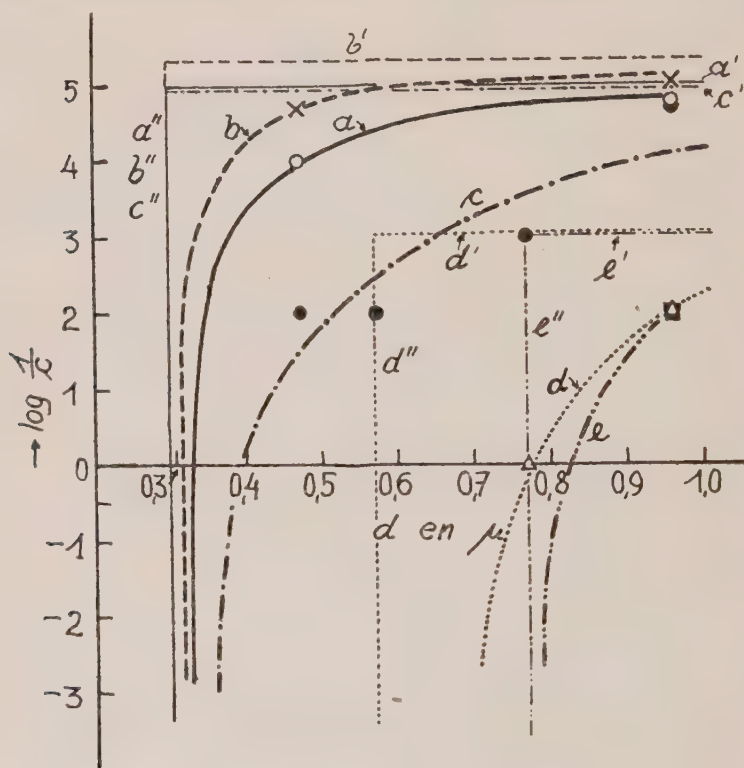


FIG. 4. — *a, c*, orchivaccin; *b*, neurovaccin; *d*, orchivaccin purifié, quatrième élution; *e*, même vaccin, première élution.

ordonnées sont portés les logarithmes des valeurs inverses des dilutions maxima *c* encore virulentes. L'axe des abscisses représente le diamètre moyen de pores en  $\mu$ . A chaque courbe correspondent deux droites, l'une parallèle à l'axe des abscisses, l'autre parallèle à l'axe des ordonnées. La première de ces droites (par exemple en *b'*) représente l'activité du virus initial non filtré, la seconde (par exemple en *b''*) exprime le diamètre

moyen de la membrane à travers laquelle l'élément virulent ne passe plus.

Les courbes *a* et *c* ont trait à deux extraits testiculaires (orchivaccine), alors que la courbe *b* se rapporte au neurovaccin d'origine cérébrale, sans aucune purification préalable. La virulence initiale de ces trois préparations était, à peu de chose près, la même, les dilutions limites actives étant de  $1/100.000$  ( $\log. \frac{1}{c} = 5$ ) pour l'orchivaccin et de  $1/200.000$  ( $\log. \frac{1}{c} = 5,3$ ) pour le neurovaccin. Les points terminaux de l'ultrafiltration ont varié entre  $0,32 \mu$  et  $0,36 \mu$  pour les trois échantillons, donc assez près l'un de l'autre, peu importe le milieu testiculaire ou cérébral qui enrobait l'élément virulent.

Par contre, en utilisant l'orchivaccin *préalablement purifié* d'après la méthode sus-mentionnée, et qui contenait moins de protéines [microdosage de l'azote par la méthode de Kjeldahl (64)], mais dont le pouvoir pathogène était manifestement affaibli, on obtient des points terminaux plus de deux fois supérieurs à ceux indiqués par l'essai avec l'orchivaccin non purifié. Ces données mettent en lumière *l'interdépendance du point terminal de l'ultrafiltration et de la virulence initiale*, phénomène constaté par Elford et Andrewes (*loc. cit.*) avec la vaccine, et par Levaditi, Païc, Voet et Krassnoff (65, 66) avec le virus herpétique et certains bactériophages (voir page 250). Ce phénomène, qui peut s'expliquer par l'adsorption des éléments virulents lors de leur passage à travers les pores des membranes en collodion, rend tant soit peu incertaine la détermination du point terminal de l'ultrafiltration, donc des dimensions des ultravirus et des bactériophages en général.

CONCLUSIONS. — 1° Le milieu qui enrobe l'élément virulent vaccinal ne semble pas influencer sensiblement le passage de ce germe à travers des membranes en collodion à porosités calculées ;

(64) Cf. ROCHE et MARQUET. *Bull. de la Soc. chim. biol.*, **17**, 1935, p. 1630.

(65) LEVADITI, PAÏC et KRASSNOFF. *C. R. de la Soc. de Biol.*, **121**, 1936, p. 805.

(66) LEVADITI, PAÏC, VOET et KRASSNOFF. *C. R. de la Soc. de Biol.*, **122**, 1936, p. 354.

2° Suivant l'activité de l'émulsion vaccinale initiale, le point terminal de la filtration se trouve entre 0,32  $\mu$  et 0,72  $\mu$ . En adoptant comme porosité limite, par laquelle l'élément virulent du virus vaccinal est arrêté, le plus petit de ces chiffres, soit 0,32  $\mu$ , il en résulte, d'après la formule corrective d'Elford, que le diamètre approximatif du virus vaccinal oscille entre 140 m $\mu$  et 160 m $\mu$ , ce qui est d'accord avec les résultats obtenus par Elford et Andrewes [*loc. cit.*], soit 125 m $\mu$  à 175 m $\mu$ .

### 3° VIRUS DE LA PESTE AVIAIRE (67).

(M. Païc, P. Haber et D. Krassnoff).

Il a été dit que l'ultrafiltration du virus de la peste aviaire à travers des membranes en collodion à pores mesurables (méthode de Bechhold), a été réalisée, pour la première fois, par Andriewsky (*loc. cit.*) en 1914. L'étude du problème a été reprise en 1933, par Elford et Todd (68), qui ont utilisé la technique de l'ultrafiltration indiquée par Elford, et ont essayé de déterminer les dimensions probables des unités virulentes. Les auteurs anglais ont employé, comme matériel de filtration, soit du liquide péricardique, soit du sérum sanguin, soit, enfin, du plasma de poules mortes de peste aviaire, matériel qu'ils ont dilué, au préalable, dans le milieu de Hartley, et dont ils ont déterminé la virulence pour les gallinacées, avant et après ultrafiltration à travers des membranes en collodion à pores de diamètre moyen préalablement calculé. Ils ont constaté que dans tous les cas, le point terminal de la filtration était 120 m $\mu$ , ce qui, d'après la formule corrective d'Elford, indique une taille moyenne de l'unité virulente comprise entre 60 m $\mu$  et 90 m $\mu$ .

Nous avons entrepris la vérification de ces données, en nous conformant exactement à la technique utilisée par Elford et Todd. Nous avons eu recours à deux souches de virus de peste aviaire : a) la souche type, que nous a fournie M. Plotz, souche cultivée par lui en présence d'éléments cellulaires, et pathogène

(67) LEVADITI, PAÏC, HABER et KRASSNOFF. *C. R. de la Soc. de Biolog.*, **122**, 1936, p. 1021.

(68) ELFORD et TODD. *Brit. Journ. exper. Pathol.*, **14**, 1933, p. 240.

TABLEAU II.

DILUTIONS	PESTE AVIAIRE, SANG					PESTE AVIAIRE, CERVEAU				
	Test	Membranes en $\mu$				Test	Membranes en $\mu$			
		0,5	0,2	0,15	0,10		0,5	0,2	0,15	0,10
1/100	—	+ 3 j.	$\infty$	$\infty$	$\infty$	—	+ 2 j.	$\infty$	$\infty$	$\infty$
1/1.000	—	+ 3 j.	$\infty$	$\infty$	$\infty$	—	+ 3 j.	$\infty$	$\infty$	$\infty$
1/10.000	+ 2 j.	+ 3 j.	$\infty$	$\infty$	$\infty$	+ 2 j.	+ 3 j.	$\infty$	$\infty$	$\infty$
1/100.000	+ 2 j.	$\infty$	$\infty$	$\infty$	$\infty$	+ 3 j.	$\infty$	$\infty$	$\infty$	$\infty$
1/500.000	+ 2 j.	$\infty$	$\infty$	$\infty$	$\infty$	+ 3 j.	$\infty$	$\infty$	$\infty$	$\infty$
1/1.000.000	+ 3 j.	—	—	—	—	$\infty$	—	—	—	—
1/10.000.000	$\infty$	—	—	—	—	$\infty$	—	—	—	—

+, mort;  $\infty$ , survie.

DILUTIONS	SOUCHE SCHMIDT (1) Titrage sur poule					SOUCHE SCHMIDT Titrage sur souris				
	Test	Membranes en $\mu$				Test	Membranes en $\mu$			
		0,5	0,2	0,15	0,10		0,5	0,2	0,15	0,10
1/100	—	+ 3 j.	$\infty$	$\infty$	$\infty$	+ 3 j.	+ 4 j.	$\infty$	$\infty$	$\infty$
1/1.000	—	+ 3 j.	$\infty$	$\infty$	$\infty$	+ 3 j.	$\infty$	$\infty$	$\infty$	$\infty$
1/10.000	+ 2 j.	$\infty$	$\infty$	$\infty$	$\infty$	+ 4 j.	$\infty$	$\infty$	$\infty$	$\infty$
1/100.000	+ 3 j.	$\infty$	$\infty$	$\infty$	$\infty$	+ 4 j.	$\infty$	$\infty$	$\infty$	$\infty$
1/500.000	+ 3 j.	$\infty$	$\infty$	$\infty$	$\infty$	$\infty$	$\infty$	$\infty$	$\infty$	$\infty$
1/1.000.000	$\infty$	—	—	—	—	—	—	—	—	—
1/10.000.000	$\infty$	—	—	—	—	—	—	—	—	—

(1) Cerveau de poule.

exclusivement pour la poule ; b) la souche dite Schmidt (69), qui fit l'objet des études récentes de Levaditi et Haber (70), et qui est virulente à la fois, pour les gallinacées et la souris. La virulence de la première est de 1/1.000 (sang dilué au 1/100) et de 1/500.000 (cerveau, même dilution) pour la

(69) Il s'agit d'une souche que nous a procurée M. Schmidt, de Copenhague.

(70) LEVADITI et HABER. *C. R. de l'Acad. des Sc.*, **202**, 1936, p. 1214 et 2018.

poule ; le pouvoir pathogène de la seconde (cerveau de poule) est de  $1/300.000$  pour la poule et  $1/100.000$  pour la souris (inoculation intrapéritonéale). La dilution test, destinée à l'ultrafiltration, était préparée dans le milieu de Hartley et dégrossie sur papier Chardin.

L'ultrafiltration a été effectuée à travers quatre membranes, dont le diamètre moyen des pores était de  $0,5 \mu$ ,  $0,2 \mu$ ,  $0,15 \mu$

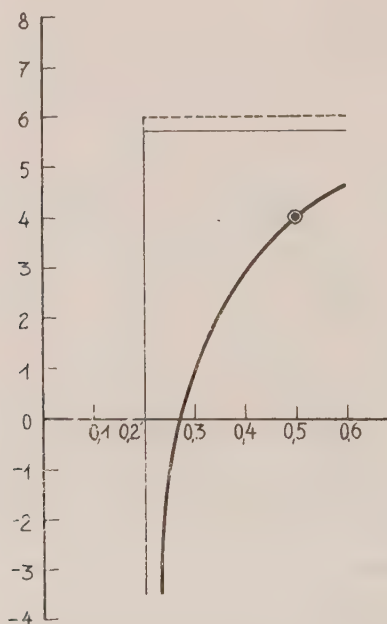


FIG. 5 — Courbes de filtrabilité du virus de la peste aviaire provenant soit du sang, soit du cerveau de poule.

et  $0,10 \mu$  respectivement. Dépourvus de membranes intermédiaires entre  $0,5 \mu$  et  $0,2 \mu$ , il nous a été impossible d'ultrafiltrer avec plus de précision entre ces deux limites. Les résultats de nos expériences sont consignés dans le tableau II.

Il résulte des données résumées dans ce tableau, que quelle que soit la souche utilisée, le degré de sa virulence et le milieu qui enrobe les unités pathogènes (sang ou cerveau), le point terminal de la filtration a été de  $0,2 \mu$  dans nos essais (voir la fig. 5). Calculé d'après la formule correctrice d'Elford, le

diamètre de cette unité pathogène est donc supérieur à 100 m $\mu$  ou 150 m $\mu$ . Bien que nos ultrafiltrations soient imprécises, en ce qui concerne les points compris entre les membranes de 0,5  $\mu$  et 0,2  $\mu$ , il apparaît évident que, d'après les résultats enregistrés par nous, le diamètre moyen de l'ultragerme de la peste aviaire est supérieur à celui indiqué par Elford et Todd, et se rapproche plus de celui déterminé par Bechhold et Schlesinger (71) [120 m $\mu$  à 130 m $\mu$ ].

Il en ressort, également, que ni la virulence (72) de la sou-

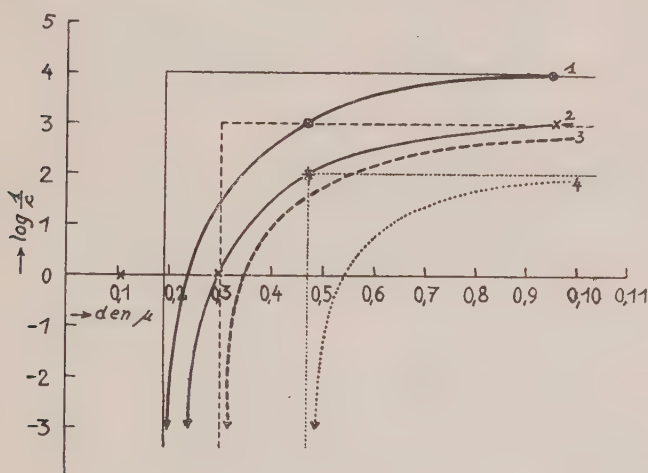


FIG. 6. — Courbes de filtrabilité du virus herpétique. 1 et 2, suspension dans le milieu de Hartley; 3, suspension dans l'eau distillée; 4, quatrième éluat dans  $\text{NH}_4\text{OH}$  n/200.

che, ni le milieu qui enrobe l'unité pathogène (sang ou cerveau), ne semblent influencer le point terminal de l'ultrafiltration du virus de la peste aviaire.

CONCLUSION. — L'ultrafiltration du virus de la peste aviaire type, ou du même virus adapté à la souris (souche Schmidt), réalisée d'après la méthode d'Elford, indique, comme diamètre approximatif moyen de l'unité virulente, plus de 100 m $\mu$  à

(71) BECHHOLD et SCHLESINGER. *Zeitschr. für Hyg.*, **142**, 1931, p. 668.

(72) Il va de soi que si l'émulsion-test est moins virulente, l'activité de l'ultrafiltrat à travers la membrane de 0,5  $\mu$ , l'est également.

150 m $\mu$ , peu importe l'activité pathogène de l'ultragerme, le milieu qui l'enrobe (sang ou cerveau) ou l'espèce animale sur laquelle le titrage est effectué.

#### 4° VIRUS HERPÉTIQUE (73).

(M. Païc, D. Krassnoff et L. Reinié.)

TECHNIQUE. — Ultrafiltration d'extraits névranxiques de lapins atteints d'encéphalite herpétique (souche B) préparés dans le milieu de Hartley. Titrage de l'extrait standard (1/10) et des ultrafiltrats, par inoculation intracérébrale effectuée à des lapins et contrôle histologique (M<sup>me</sup> Rousset-Chabaud).

Résultats. — Les résultats obtenus sont représentés par la figure ci-jointe (fig. 6).

Le graphique permet de formuler les remarques suivantes :

Le virus herpétique traverse des pores d'autant plus serrés, que l'activité pathogène initiale de la suspension est plus grande. Ainsi, dans le cas représenté par la courbe 1, où le virus initial agit encore à la dilution de 1/10.000 (log.  $1/c = 4$ ), le même virus est arrêté par des pores de 0,2  $\mu$ . Pour une virulence initiale inférieure, par exemple 1/100 (log.  $1/c = 2$ , courbe 4), le virus est déjà arrêté par les pores de 0,5  $\mu$  environ. Il s'agit, dans ce dernier cas, d'un virus adsorbé d'abord par le kaolin, puis dilué par l'ammoniaque  $n/200$ , aux fins de purification. Ce comportement provient, très vraisemblablement, de l'adsorption du virus par les membranes. Le germe ne réussit à traverser la membrane qu'après l'avoir saturée. Or, dans le cas de suspensions de faible activité, la quantité de virus n'est pas suffisante pour la saturation, ce qui fait que le germe n'ultrafiltre pas.

Il est évident que l'on ne peut déduire des résultats de l'ultrafiltration aucune conclusion précise, concernant la dimension réelle des virus, si l'on n'est pas sûr d'avoir, au préalable, saturé la membrane. Le moyen le plus simple pour arriver à la saturation, serait de filtrer des quantités considérables de virus, mais ici apparaît une autre difficulté. Dans le cas du virus herpétique, en dépit de la filtration de l'émul-

(73) LEVADITI, PAÏC et KRASSNOFF. *C. R. Soc. Biolog.*, **424**, 1936, p. 805.

sion standard à travers la pulpe de papier, cette émulsion contient encore des particules en suspension, lesquelles colmatent la membrane et en diminuent la porosité, en sorte que celle-ci diffère considérablement de celle de la membrane fraîche. Le tableau suivant montre la porosité de quelques membranes avant et après l'ultrafiltration du virus :

	AVANT l'ultrafiltration en $\mu$	APRÈS l'ultrafiltration en $\mu$
Emulsion standard dans l'eau distillée. . . . .	0,30	0,09
Emulsion standard dans l'eau distillée. . . . .	0,19	0,06
Eluat dans $\text{NH}_4\text{OH}$ $n/200$ . . . . .	0,47	0,11
Eluat dans $\text{NH}_4\text{OH}$ $n/200$ . . . . .	0,30	0,15
Eluat dans $\text{NH}_4\text{OH}$ $n/200$ . . . . .	0,19	0,12

CONCLUSIONS. — Le point terminal de la filtration devrait permettre, après application d'un facteur correctif (74), la détermination des dimensions du virus étudié. Toutefois, au lieu d'un point terminal, nous en avons toute une gamme, allant de 0,2 à 0,5  $\mu$  environ. *Pour ces raisons, nous nous abstenons de conclure quant à la dimension réelle du virus herpétique et des ultravirus en général, n'étant pas certains que dans d'autres conditions d'expérience, permettant d'éviter l'adsorption et le colmatage, ces virus ne passeraient pas par des pores plus serrées.* Dans ce cas, les dimensions du virus de l'herpès seraient inférieures à celles données par Elford, Perdrau et Smith (75) [100  $\text{m}\mu$  à 150  $\text{m}\mu$ ] et par Bechhold et Schlesinger (76) [180  $\text{m}\mu$  à 220  $\text{m}\mu$ ].

### 5° VIRUS RABIQUE DES RUES ET FIXE (77).

(M. Païc, D. Krassnoff et L. Reinié.)

Galloway et Elford (78) ont étudié le point terminal et les dimensions du virus rabique fixe. La taille de l'unité virulente

(74) ELFORD. *Proc. Roy. Soc. biol.*, **412**, 1933, p. 384. Littérature complète dans : P. GRABAR. *Bull. Soc. chim. Biol.*, **17**, 1935, p. 1245.

(75) ELFORD, PERDRAU et SMITH. *Journ. Pathol. Bact.*, **36**, 1933, p. 49.

(76) BECHHOLD (H.) et SCHLESINGER (M.). *Zeitschr. Hyg. Infektionskr.*, **415**, 1933, p. 242.

(77) LEVADITI, PAÏC et KRASSNOFF. *C. R. Soc. Biolog.*, **123**, 1936, p. 866

(78) GALLOWAY. *Proc. of roy. Soc. of Med.*, **29**, 1936, p. 563. — GALLOWAY et ELFORD. *Journ. of Hyg.*, **36**, 1936, p. 532.

TABLEAU III.

MEMBRANES	PUR	DILUTIONS			
		1/10	1/100	1/1.000	1/10.000
Non filtré .	Mort le 8 <sup>e</sup> jour. Passage positif.	Mort le 10 <sup>e</sup> jour. Passage positif.	Mort le 9 <sup>e</sup> jour. Passage positif.	Mort le 11 <sup>e</sup> jour. Passage positif.	Survit.
0 $\mu$ 43 . . .	Mort le 10 <sup>e</sup> jour. Passage posi if.	—	Mort le 12 <sup>e</sup> jour. Passage positif.	Survit.	Survit.
0 $\mu$ 25 . . .	Survit.	Survit.	Survit.	Survit.	Survit.
0 $\mu$ 20 . . .	Survit.	Survit.	Survit.	Survit.	Survit.
0 $\mu$ 15 . . .	Survit.	Survit.	Survit.	Survit.	Survit.

serait de 100  $\mu$  à 150  $\mu$ . Par ailleurs, Yaoi, Kanazawa et Sato (79), se servant d'une souche de virus fixe « Fukuoka », constatent que des membranes dont les pores atteignent 0,24  $\mu$  ne sont traversées que faiblement par ce virus, et à condition que le filtrat stock soit, au départ, éminemment actif. La taille déterminée par les auteurs japonais serait de 100  $\mu$  à 150  $\mu$ .

Nos expériences ont été réalisées avec deux souches de virus rabique [le virus fixe Paris et une souche de virus des rues, Bucarest II, particulièrement négrogène chez le lapin et la souris (80)], afin d'étudier l'ultrafiltrabilité et les dimensions, en fonction de la virulence et de la négrogénèse. Voici nos résultats :

I. VIRUS FIXE. — Emulsion cérébrale à 10 p. 100 dans le liquide de Hartley, clarifiée par filtration sur papier-filtre et par centrifugation. Ultrafiltration par la méthode d'Elford. Titrage par inoculation intracérébrale au lapin et à la souris (tableau III). Cette expérience (81) montre que le virus rabique fixe traverse la membrane de 0,43  $\mu$ , mais est arrêté par les membranes de 0,25  $\mu$ , 0,20  $\mu$  et 0,15  $\mu$ . De plus, il en résulte que le filtrat à travers la membrane de 0,43  $\mu$  a perdu sensiblement son activité pathogène.

(79) YAOI, KANAZAWA et SATO. *Japan. Journ. of exp. Med.*, **14**, 1936, p. 73.

(80) Cf. LEVADITI, SCHOEN et MEZGER. *Arch. intern. de Med. exper.*, **7**, 1932, p. 655.

(81) Le contrôle histologique a été fait par M<sup>lle</sup> SCHOEN, que nous prions d'agréer nos remerciements.

TABLEAU IV.

MEMBRANES	PUR	DILUTIONS	
		1/100	1/1.000
Non filtré .	<i>Mort le 11<sup>e</sup> jour.</i>	<i>Mort le 15<sup>e</sup> jour..</i>	<i>Mort le 20<sup>e</sup> jour.</i>
0 $\mu$ 43. . .	<i>Mort le 15<sup>e</sup> jour.</i>	Survit; non vacciné.	Survit; non vacciné.
0 $\mu$ 25. . .	Survit; non vacciné.	Survit; non vacciné.	Survit; non vacciné.
0 $\mu$ 20. . .	Survit; non vacciné.	Survit; non vacciné.	Survit; non vacciné.
0 $\mu$ 15. . .	Survit; non vacciné.	Survit; non vacciné.	Survit; non vacciné.
0 $\mu$ 10. . .	Survit; non vacciné.	Survit; non vacciné.	Survit; non vacciné.

MEMBRANES	DILUTIONS		
	1/10.000	1/100.000	1/1.000.000
Non filtré .	Survit; non vacciné.	Survit; non vacciné.	Survit; non vacciné.
0 $\mu$ 43. . .	Survit; non vacciné.	Survit; non vacciné.	Survit; non vacciné.
0 $\mu$ 25. . .	Survit; non vacciné.	Survit; non vacciné.	Survit; non vacciné.
0 $\mu$ 20. . .	Survit; non vacciné.	Survit; non vacciné.	Survit; non vacciné.
0 $\mu$ 15. . .	Survit; non vacciné.	Survit; non vacciné.	Survit; non vacciné.
0 $\mu$ 10. . .	Survit; non vacciné.	Survit; non vacciné.	Survit; non vacciné.

II. VIRUS RABIQUE DES RUES. — Même dispositif expérimental (tableau IV).

Cet essai montre que la souche du virus des rues Bucarest II, rabigène à la dilution de 1 p. 1.000 avant la filtration, traverse la membrane de 0,43  $\mu$ , mais est arrêtée par les membranes de 0,25  $\mu$ , 0,20  $\mu$ , 0,15  $\mu$  et 0,10  $\mu$ . Ici, la virulence s'est trouvée considérablement diminuée après l'ultrafiltration à travers la membrane de 0,43  $\mu$ .

L'ensemble de nos résultats est représenté par la figure ci-jointe (fig. 7).

CONCLUSIONS. — Les courbes d'ultrafiltrabilité obtenues, très voisines pour les deux souches de virus rabique examinées, laissent prévoir un point terminal d'ultrafiltration d'environ 0,32  $\mu$  pour le virus des rues. Ces valeurs sont très voisines, quoique nettement supérieures à celles indiquées par Galloway et Elford, et par Yaoi et ses collaborateurs. Les points terminaux intrapolés par nous correspondraient à une taille d'environ 140 m $\mu$  à 210 m $\mu$  pour le virus fixe, et de 160 m $\mu$  à 240 m $\mu$ .

pour le virus des rues, donc dépassant celles trouvées par ces expérimentateurs. Il est possible que cet écart soit dû au fait, que, dans ces recherches, nous avons réalisé le dégrossissement de l'émulsion stock par simple filtration sur papier Charadin et centrifugation, sans y ajouter l'ultrafiltration préalable par une membrane très perméable (voir ci-dessous).

Quoi qu'il en soit, deux faits importants découlent de l'en-

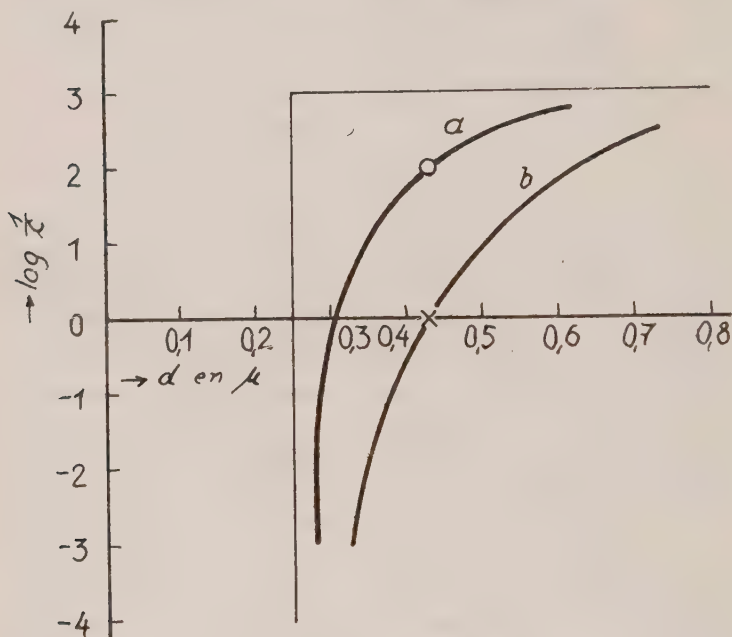


FIG. 7. — *a*, courbe de l'ultrafiltration du virus rabique fixe;  
*b*, courbe de l'ultrafiltration du virus rabique des rues.

semble de ces essais. En premier lieu, s'il ne paraît pas y avoir des écarts considérables, du point de vue de l'ultrafiltrabilité et de la taille des unités virulentes, entre une souche rabique éminemment négroïdène, et une autre souche fixe dont la négroïdénèse est pratiquement nulle, les différences sont, cependant, appréciables. L'élément corpusculaire du virus des rues semble plus volumineux que celui du virus fixe. En second lieu, il est intéressant de constater que les unités virulentes de deux virus (fig. 7), offrant plus d'une analogie et éminemment neurotropes, celui de la *rage* et celui de la *poliomyélite*, se

comportent différemment quant à leur ultrafiltrabilité et à leurs dimensions respectives [100 m $\mu$  à 150 m $\mu$ , voire même 160 m $\mu$  à 240 m $\mu$  pour le virus rabique, et 8 m $\mu$  à 12 m $\mu$ , voire même 14 m $\mu$  pour le virus poliomyélitique (82)]. La réalité de toute une gamme de dimensions des ultragermes est donc hors de doute, de même que le rôle secondaire du milieu organique qui les enrobe. L'exemple de ces deux virus neurophiles, tous

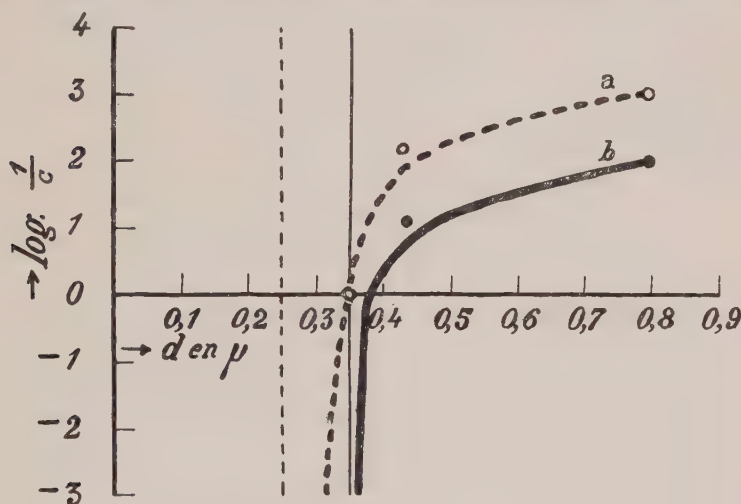


FIG. 8. — Courbes de filtrabilité.  
a, virus rabique fixe; b, virus rabique des rues.

deux cultivés dans le névraxe, et, cependant, de dimensions si inégales, en fournit la preuve.

\*  
\* \*

Depuis la publication de ces résultats et conclusions, de nouvelles expériences ont été effectuées par Levaditi, Païc, Krassnoff et Reinié. L'ultrafiltration a été pratiquée à travers des membranes dont les diamètres moyens des pores étaient de 800 m $\mu$ , 430 m $\mu$ , 350 m $\mu$ , 250 m $\mu$ , 200 m $\mu$  et 190 m $\mu$ , en

(82) ELFORD, GALLOWAY et PERDRAU. *Journ. of Pathol. and Bacter.*, **40**, 1935, p. 135. — LEVADITI, KLING, PAÏC et HABER. *C. R. de l'Acad. des Sc.*, **203**, 1936, p. 899.

ayant soin de dégrossir, au préalable, l'émulsion névrauxique (virus des rues Bucarest II et virus fixe), en la filtrant par un filtre de sable et de papier Chardin (méthode d'Elford). Or, dans ces conditions, le *virus fixe*, dont l'activité pathogène était, au début, de  $10^{-3}$ , a traversé la membrane de 430 m $\mu$  ( $10^{-2}$ ) et la membrane de 350 m $\mu$  (pur), alors que le *virus des rues*, dont la virulence, au départ, a été d'au moins  $10^{-2}$ , n'a passé que par la membrane de 430 m $\mu$  (pur) [fig. 8]. *Les écarts constatés entre les dimensions moyennes des unités virulentes du virus des rues et du virus fixe, les premières tant soit peu supérieures aux secondes, ont donc persisté, en dépit du dégrossissement par le sable et le papier filtre.*

#### 6° VIRUS POLIOMYÉLITIQUE (83).

(C. Kling, M. Païc, D. Krassnoff et P. Haber.)

La *filtrabilité* du virus poliomyélitique a été démontrée, en 1909, par Levaditi et Landsteiner (84) et confirmée par Flexner et Lewis (85) ; son ultrafiltrabilité à travers du papier-filtre imbibé de collodion, par Krueger et Schultz (86), en 1929. L'application de la *méthode d'ultrafiltration* par des membranes de collodion à perméabilité calculée [Elford (87)], a permis à Theiler et Bauer (88) de préciser, avec une certaine approximation, les dimensions de l'unité virulente ; elle oscillerait entre 12 m $\mu$  et 17 m $\mu$  (point final = 0  $\mu$  033). Elford, Galloway et Perdrau (89) ont confirmé ces données (taille = 8 m $\mu$  à 12 m $\mu$  ; point final : 0  $\mu$  030). L'élément virulent du virus de la paralysie infantile aurait donc des dimensions excessivement réduites, se rapprochant de celles du virus de la fièvre aphteuse et de certains bactériophages.

Nous avons utilisé la même méthode, afin de comparer, du

(83) LEVADITI, KLING, PAÏC et HABER. *C. R. Acad. Sc.*, **203**, 1936, p. 899.

(84) LEVADITI et LANDSTEINER. *C. R. Soc. Biol.*, **66**, 1909, p. 787.

(85) FLEXNER et LEWIS. *J. am. med. Assoc.*, **53**, 1909, p. 2095.

(86) KRUEGER et SCHULTZ. *Proc. Soc. exp. Biol. a. Med.*, **26**, 1929, p. 600.

(87) ELFORD. *Journ. of pathol. and Bact.*, **34**, 1931, p. 505.

(88) THEILER et BAUER. *Journ. of exp. Med.*, **60**, 1934, p. 767.

(89) ELFORD, GALLOWAY et PERDRAU. *Journ. of Pathol. and Bact.*, **40**, 1935, p. 135.

point de vue de leurs tailles respectives, le virus de la rage (fixe et des rues) et celui de la poliomyélite. Voici nos résultats concernant ce dernier.

EXPÉRIENCE. — Virus poliomyélitique souche américaine ; concentration (milieu de Hartley) à 10 p. 100. Ultrafiltration à travers trois membranes de 0  $\mu$  15, 0  $\mu$  058 et 0  $\mu$  013. Titrage au 1/100 et au 1/1.000. Inoculation des filtrats au *Macacus rhesus* par voie intra-cérébrale (0 c. c. 5) et intranasale (tableau V).

TABLEAU V.

MEMBRANES	NON DILUÉ	DILUÉ AU 1/100	DILUÉ AU 1/1.000
Non filtré (test).	<i>Rhesus</i> 31. Mort paralysé le 9 <sup>e</sup> jour. Lés. +.	<i>Rhesus</i> 32. Mort paralysé le 6 <sup>e</sup> jour. Lés. +.	<i>Rhesus</i> 33. Mort paralysé le 10 <sup>e</sup> jour. Lés. +.
0 $\mu$ 15 . . . . .	<i>Rhesus</i> 34. Mort paralysé le 12 <sup>e</sup> jour. Lés. +.	<i>Rhesus</i> 35. Survit.	<i>Rhesus</i> 36. Survit.
0 $\mu$ 058 . . . . .	<i>Rhesus</i> 40. Mort paralysé le 9 <sup>e</sup> jour. Lés. +.	<i>Rhesus</i> 27. Survit.	<i>Rhesus</i> 28. Survit.
0 $\mu$ 013 . . . . .	<i>Rhesus</i> 41. Survit.	<i>Rhesus</i> 29. Survit.	<i>Rhesus</i> 30. Survit.

Il y a lieu de conclure ce qui suit :

1° Une souche de virus poliomyélitique, virulente au 1/1.000, ultrafiltrée à travers des membranes en collodion dont les pores ont un diamètre de 0  $\mu$  15 et de 0  $\mu$  058, fournit des filtrats virulents, alors que le résultat est négatif, si l'ultrafiltration est effectuée à travers une membrane de 0  $\mu$  013. Toutefois, l'ultrafiltration détermine un appauvrissement considérable du virus en unités virulentes ;

2° Le point terminal doit donc se trouver entre 0  $\mu$  058 et 0  $\mu$  013, ce qui est en accord avec les résultats de Theiler et Bauer, et d'Elford et ses collaborateurs, soit 0  $\mu$  035 et 0  $\mu$  030, ce qui correspondrait à une taille d'environ 15 m $\mu$ .

## 7° VIRUS LYMPHOGRANULOMATEUX

## MALADIE DE NICOLAS-FAVRE (90).

(M. Païc, D. Krassnoff et L. Reinié.)

La filtrabilité du virus lymphogranulomateux sur des bougies Chamberland et Berkefeld, a été démontrée, pour la première fois, en 1931, par Levaditi, Ravaut, Lépine et Schoen (91), et par Hellerström et Vassen (92). Son ultrafiltrabilité à travers des membranes en collodion à pores mesurables (méthode d'Elford), a fait l'objet de recherches relatives par Miyagawa et ses collaborateurs (93), d'une part, par Broom et Findlay (94), d'autre part. Les expérimentateurs japonais ont ultrafiltré une souche prélevée directement de l'homme. et une autre souche entretenue par des passages cérébraux effectués sur la souris. Ils ont constaté que la première de ces souches traversait des membranes de 0,600  $\mu$  et était arrêtée par des membranes de 0,200  $\mu$ , alors que, pour la seconde, la filtration était positive avec des membranes de 0,330  $\mu$  et négative avec des membranes de 0,240  $\mu$  (test sur le singe). Broom et Findlay se sont servis d'émulsions cérébrales de souris (test sur la même espèce animale), et ont enregistré des résultats positifs avec des membranes de 0,330  $\mu$ , et négatifs avec des membranes de 0,230  $\mu$ . Calculée d'après la formule d'Elford, la taille du virus de la maladie de Nicolas et Favre serait donc de 123 m $\mu$  à 175 m $\mu$ .

Afin de préciser l'interdépendance de l'ultrafiltration (et par conséquent des tailles calculées) des ultravirus, d'une part, le degré de la virulence d'autre part, il nous a semblé opportun de répéter les expériences de Miyagawa et de Broom et Findlay. En effet, dans le cas particulier du virus lymphogranulomateux, une très grande variabilité de l'activité pathogène [et

(90) LEVADITI, PAÏC et KRASSNOFF. *C. R. Soc. Biolog.*, **123**, 1936, p. 1048.

(91) LEVADITI, RAVAUT, LÉPINE et SCHOEN. *C. R. Soc. Biolog.*, **106**, 1931, p. 729.

(92) HELLERSTRÖM et VASSÉN. *C. R. Soc. Biolog.*, **106**, 1931, p. 802.

(93) MIYAGAWA, MITAMURA, YAOI, ISHII et OKANISHI. *Jap. Journ. of exper. Med.*, **13**, 1935, p. 723.

(94) BROOM et FINDLAY. *Brit. Journ. exper. Path.*, **17**, 1936, p. 135.

même antigénique (95)] a été constatée, au cours de nos recherches, pour une même souche de l'ultragerme de la maladie de Nicolas et Favre, et cela, non seulement suivant l'espèce animale (singe ou souris) ayant fourni le matériel virulent (névraxe), mais encore, et peut-être plus, d'après le sujet en expérience. Les résultats de l'ultrafiltration, et par conséquent, les tailles calculées des éléments actifs, sont-elles influencées par ce facteur virulence, et, s'il en est ainsi, à quel point ?

Nous nous sommes servis de la souche *Kam.*, isolée, en 1931, par Levaditi, Ravaut, Lépine et Schoen, et entretenue, dans notre laboratoire, par des passages réguliers sur singe et souris. Nos expériences sont au nombre de cinq. L'activité pathogène de chaque échantillon d'émulsion névraxique soumise à l'ultrafiltration (suivant la technique d'Elford), a été appréciée par inoculation de dilutions progressives à des souris (voie intracérébrale). La virulence des filtrats a été déterminée par des injections analogues, pratiquées soit à des souris, soit à des simiens. Quant au matériel ayant servi à l'ultrafiltration, il provenait quatre fois de singes, et une seule fois de souris.

Disons de suite, que, contrairement à d'autres ultravirus, celui de la maladie de Nicolas et Favre est doué d'un pouvoir pathogène manifestement faible. Il est rare, en effet, que des dilutions au 1/100, par exemple, soient régulièrement encéphalitogènes pour la souris. Souvent la virulence ne dépasse pas le titre de 1/30 à 1/40. Voici les résultats de nos essais (96) :

1° *Echantillon très faiblement virulent*, provenant du *Macacus cynomolgus* n° 13. Pathogène seulement à l'état concentré. Antigène de Frei, cependant, très actif. Ne traverse pas la membrane de 0,800  $\mu$ . Taille approximative = 600 m $\mu$  à 800 m $\mu$ .

2° *Echantillon faiblement virulent*, provenant du *Cynocephalus babuin* n° 984. Pathogène à la dilution de 1/40. Traverse la membrane de 0,800  $\mu$ , mais est arrêté par la membrane de 0,470  $\mu$ . Taille approximative = 230 m $\mu$  à 350 m $\mu$ .

3° *Echantillon moyennement virulent*, provenant du *Macac*

(95) LEVADITI, DUREL et REINIÉ. *Bull. Soc. de Dermatol. et Syphiligr.*, 42, 1935, (séance du 14 novembre), p. 1639.

(96) L'examen histologique a été pratiqué avec le concours de M<sup>me</sup> Rousset-Chabaud.

*cus cynomolgus* n° 974. Traverse la membrane de 0,470  $\mu$ , mais est apparemment arrêté par la membrane de 0,490  $\mu$ . Taille approximative = 100 m $\mu$  à 110 m $\mu$ .

4° *Echantillon virulent* provenant du *Cercopithecus callithrix* n° 982. Actif au 1/100 et faiblement pathogène au 1/1.000. Traverse la membrane de 0,300  $\mu$ , mais est arrêté par la membrane de 0,190  $\mu$ . Taille approximative = 100 m $\mu$  à 140 m $\mu$ .

5° Enfin, un dernier échantillon a été fourni par des souris. L'essai de la virulence des filtrats ayant été effectué, d'une part, sur la même espèce animale, et, d'autre part, sur le singe. L'inoculation aux simiens a montré que le virus traversait la membrane de 0,430  $\mu$ , mais était arrêté par la membrane de 0,250  $\mu$ . Taille approximative = 120 m $\mu$  à 180 m $\mu$ . Par contre, le test-souris a révélé que seul le filtrat à travers la membrane de 0,800  $\mu$ , était constamment encéphalitogène (virulence du filtrat au 1/10).

CONCLUSIONS. — 1° Il résulte de l'ensemble de ces données que le degré de l'activité pathogène d'une même souche de virus lymphogranulomateux, influe considérablement les résultats de l'ultrafiltration, et, par conséquent, les calculs de la taille des unités virulentes. Les tailles les plus petites correspondent, en effet, aux échantillons les plus pathogènes, attendu que ces échantillons sont, précisément, ceux qui ultrafiltrent à travers les membranes les moins perméables. Et ceci confirme les conclusions formulées, dès 1923, par Levaditi et Nicolau (97), au sujet de l'interdépendance de la virulence et de l'ultrafiltration des ultravirus neurotropes à travers des sacs en collodion ;

2° Ceci étant, les dimensions calculées par nous des unités virulentes les plus pathogènes, correspondent, à peu de chose près, à celles indiquées par Broom et Findlay. (100 m $\mu$  à 140 m $\mu$ ) ;

3° L'espèce animale servant de test pour l'appréciation de la virulence des filtrats, joue un rôle appréciable dans l'estimation des tailles des unités virulentes. Ainsi, calculée d'après

(97) LEVADITI et NICOLAU. *C. R. de l'Acad. des Sc.*, **176**, 1923, p. 717.

les résultats fournis par le test-souris, cette taille serait de 430  $\mu$  à 570  $\mu$  dans une de nos expériences, alors qu'estimée d'après les données de l'essai fait sur le test-singe, la même taille apparaît de 120  $\mu$  à 180  $\mu$ . Cet écart considérable est tout simplement dû à la plus grande réceptivité du singe, comparée à celle de la souris ;

4° *L'influence de ces multiples facteurs montre à quel point l'on doit être circonspect, quand on se propose d'évaluer, avec certitude, les dimensions des ultravirus et des bactériophages.*

#### 8° ULTRAFILTRATION DES BACTÉRIOPHAGES (98).

(M. Païc, J. Voet et D. Krassnoff.)

L'ultrafiltration des bactériophages, d'après le procédé d'Elford (*loc. cit.*), et la précision de leur diamètre, ont été étudiées par Elford et Andrewes (99), et par Burnet (100). Nos expériences ont porté sur cinq espèces de phages, à savoir *coli S*, *B. megatherium*, dysentérique Flexner C<sub>16</sub>-YR<sub>6</sub>, staphylocoque Krüger et *B. subtilis*, que nous devons soit à la collection de l'Institut Pasteur, soit à MM. Andrewes et Wollman (101). La technique utilisée fut, en tous points, identique à celle préconisée par Elford.

Les résultats sont représentés par les figures 9 à 11, sous forme de courbes de filtrabilité. Sur l'axe des ordonnées des figures 9 et 10 sont portés les logarithmes des valeurs inverses des dilutions maxima *c*, provoquant une lyse complète de la culture microbienne examinée. Sur la figure 11, le même axe représente le logarithme des valeurs inverses des dilutions maxima donnant encore des plages sur gélose. L'axe des abscisses de toutes les figures représente les diamètres des pores en  $\mu$ . A chaque courbe de filtrabilité, correspondent deux droites, pouvant être considérées, en première approximation.

(98) LEVADITI, PAÏC, VOET et KRASSNOFF. *C. R. Soc. Biolog.*, **122**, 1936, p. 354.

(99) ELFORD et ANDREWES. *Brit. Journ. of exper. Pathol.*, **13**, 1932, p. 446.

(100) BURNET, in BURNET et ANDREWES. *Zentralbl. f. Bakter.*, **130**, 1933, p. 161.

(101) Nous prions ces expérimentateurs d'agréer nos remerciements.

comme des asymptotes. L'une de ces droites est parallèle à l'axe des abscisses, l'autre à l'axe des ordonnées. La première correspond à l'activité du liquide initial filtré sur bougie Chamberland L<sub>3</sub>, la deuxième au point terminal de l'ultrafiltration. Les courbes correspondant à ces « asymptotes »

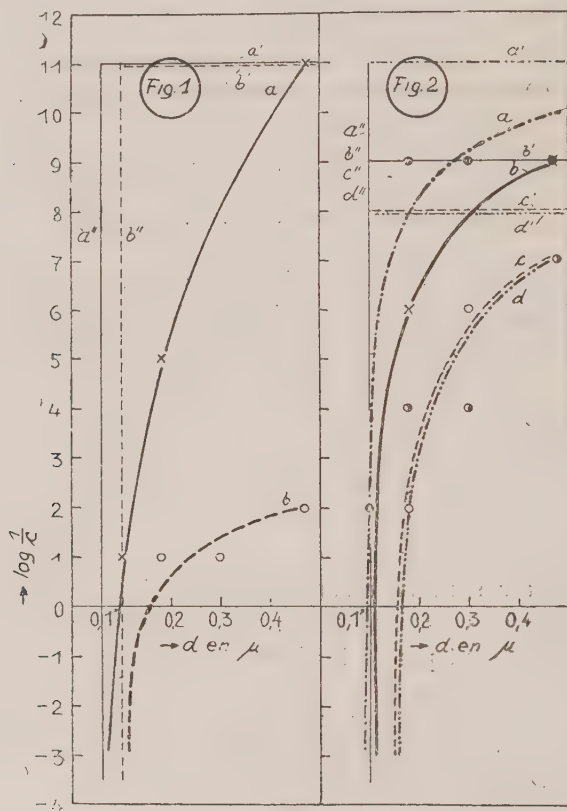


FIG. 9. — (1) Courbes de filtrabilité du bactériophage coli S. *a*, en bouillon; *b*, en bouillon additionné d'extrait de cerveau de lapin. (2) Courbes de filtrabilité du bactériophage C<sub>10</sub>YR<sub>6</sub>; *b* et *c*, en bouillon; *a* et *d*, en bouillon dilué dans le rapport 1/1 avec une émulsion de cerveau de lapin (1 p. 10) dans le milieu de Hartley.

(mêmes traits et mêmes lettres), montrent la variation de la virulence du filtrat entre les deux valeurs extrêmes.

*a*) La figure 9 représente les courbes de filtrabilité du bactériophage coli S. La courbe *a* correspond au bactériophage

suspendu dans du bouillon ordinaire ( $\text{pH}=7,2$ ), tandis que la courbe *b* se rapporte au filtrat du même bactériophage dans du bouillon, mais additionné dans le rapport 1/1 d'une suspension à 1 p. 10 de cerveau de lapin dans le milieu de Hartley (102). On voit que la matière cérébrale augmente le colmatage des membranes. De ce fait, en présence d'extrait

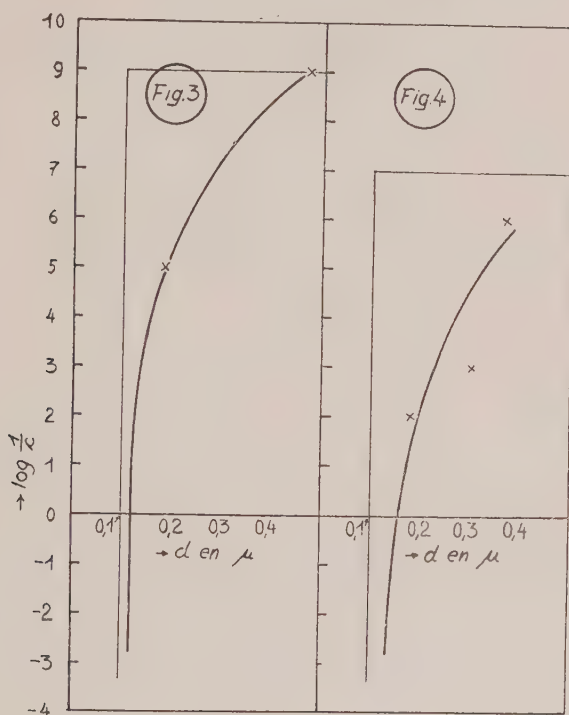


FIG. 10. — (3) Courbe de filtrabilité du bactériophage staphylocoque Krüger.  
(4) Courbe de filtrabilité du bactériophage *B. subtilis*.

de cerveau, le bactériophage est arrêté par la membrane de  $0,1 \mu$ , alors qu'à l'état de simple filtrat, il n'est retenu que par les pores de  $0,06 \mu$  environ (fig. 9(1) a).

b) La figure 9(2) représente les courbes de filtrabilité du bactériophage  $C_{16}$ -YR<sub>6</sub> (bacille dysentérique Flexner). Les

(102) LEVADITI et VOET (*C. R. de la Soc. de Biol.*, **120**, 1935, p. 638) ont montré que l'addition d'un extrait de cerveau de lapin ne modifie pas sensiblement le pouvoir lytique de certains phages.

courbes *b* et *c* se rapportent au phage suspendu dans du bouillon ordinaire, tandis que les courbes *a* et *d* correspondent au même phage additionné d'un extrait de cerveau de lapin dans le milieu de Hartley (1 p. 10). Dans ce cas, l'extrait de cerveau ne paraît pas augmenter le colmatage des mem-

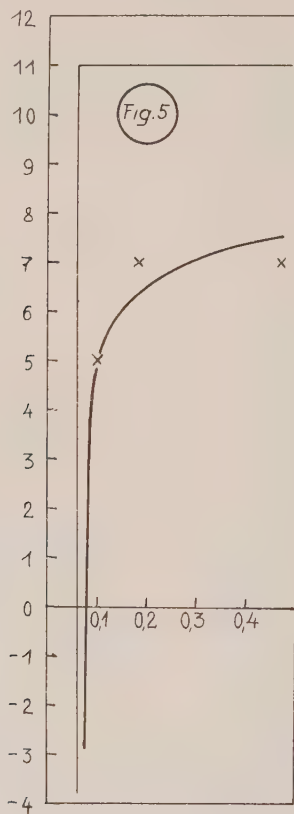


FIG. 11. — Courbe de filtrabilité du bactériophage *B. megatherium*.

branes (voir par exemple les courbes *a* et *e*). Par contre, nous retrouvons ici l'interdépendance du point terminal de la filtration et de l'activité initiale du bactériophage, phénomène déjà observé par Elford et Andrewes (103) pour la vaccine, et par Levaditi, Païc et Krassnoff (*loc. cit.*) pour le virus

(103) ELFORD et ANDREWES. *Brit. Journ. of exper. Pathol.*, **13**, 1932, p. 36.

herpétique. Suivant cette activité, le point terminal de filtration du bactériophage  $C_{16}$ -YR<sub>6</sub> se trouve entre 0,1  $\mu$  et 0,16  $\mu$ .

c) Le bactériophage du *B. megatherium* lysogène (fig. 44), titré par dénombrement des colonies sur gélose (variété sensible), donne un point terminal de 0,07  $\mu$  environ.

CONCLUSIONS. — 1° La présence d'extrait de cerveau contenant des protéides et des lipoides peut, dans certains cas (bactériophage *coli* S), déplacer le point terminal de l'ultrafiltration vers des porosités plus grandes.

2° Pour le bactériophage dysentérique  $C_{16}$ -YR<sub>6</sub> le point terminal est en fonction du pouvoir lytique du bactériophage.

3° Les dimensions moyennes des pores qui arrêtent les divers bactériophages étudiés, ainsi que leurs diamètres [calculés d'après Elford (104)], sont consignés dans le tableau suivant :

PHAGE	POINT TERMINAL en $\mu$	DIAMÈTRE en $\mu$
1. <i>Coli</i> S . . . . .	0,06 à 0,11	0,02 à 0,05
2. <i>B. megatherium</i> . . . . .	0,08	0,03 à 0,04
3. $C_{16}$ -YR <sub>6</sub> . . . . .	0,09 à 0,16	0,03 à 0,08
4. Staphylocoque Krüger . . . . .	0,12	0,06 à 0,09
5. <i>B. subtilis</i> . . . . .	0,16	0,08 à 0,12

4° Pour certains bactériophages, nos chiffres concordent approximativement avec ceux d'Elford et Andrewes et de Burnet;

5° L'ensemble de ces recherches confirme ainsi la conception de la pluralité des phages.

### C. — Considérations générales (105)

L'ensemble de nos constatations, auxquelles s'ajoutent celles qui les ont précédées, autorisent à formuler les conclusions suivantes :

(104) ELFORD. *Loc. cit.*

(105) Extrait de l'article « Les ultravirus ; caractères généraux, leur comportement et leur nature, par C. LEVADITI ». « *Traité des Ultravirus des maladies humaines* », de Levaditi et Lépine, Paris, Maloine, édit., 1938.

1° L'échelle des grandeurs des ultravirus et des bactériophages (31 calculs) est vaste, puisque les tailles sont comprises entre 10  $\mu$  et 250  $\mu$  en moyenne ;

2° Cette échelle est graduée progressivement, aucun saut considérable n'ayant été relevé jusqu'à ce jour ;

3° Envisagés sous l'angle de leurs tailles moyennes, ultravirus et bactériophages comportent une extraordinaire variabilité, quoique les agents lytiques (excepté celui du *B. subtilis*), se groupent, généralement, parmi les éléments à dimensions très réduites ;

4° Parmi les unités les plus petites (8  $\mu$  à 12  $\mu$  et 20  $\mu$  à 30  $\mu$ ), on compte, à la fois, des ultragermes et des bactériophages ;

5° Le diamètre des particules lysogènes diffère d'une espèce de phage à l'autre (pluralité des agents lytiques) ;

6° Les dimensions, calculées grâce à l'ultrafiltration, sont, pour autant que nous puissions le juger à l'heure actuelle, réelles, en ce sens que des observateurs utilisant des méthodes tant soit peu différentes, ont enregistré des résultats assez identiques. Mais là n'est pas la question. En effet, on peut toujours se demander si une particule ayant la taille révélée par le calcul, représente, en vérité, l'unité active (pathogène ou lytique), ou bien si cette unité, toujours égale à elle-même (quel que soit le virus ou le phage envisagé) ne possède cette taille, que parce que cette particule est incluse dans une enveloppe plus ou moins épaisse, enveloppe que lui fournissent les matériaux contenus dans les tissus contaminés, ou les cultures lysées. S'il en était ainsi, il s'agirait, en l'espèce, de tailles « non réelles », mais simplement « apparentes », ayant une signification tout autre que celle que l'on est, de prime abord, porté à leur accorder.

Afin de résoudre ce problème, il devient donc nécessaire de prendre en considération le facteur *milieu*, sur le plan de l'ultrafiltration à travers des membranes en collodion de porosité calculée.

RÔLE DU MILIEU. — Parmi les meilleures méthodes pouvant nous aider à définir ce rôle, citons les suivantes :

1° Association, dans le même milieu (cerveau, par exemple),

d'un ultravirus de forte taille (tel celui de l'herpès : 100 m $\mu$  à 150 m $\mu$ ), à un autre ultragerme plus petit, ou, ce qui serait préférable, à un bactériophage extrêmement ténu (15 m $\mu$  à 20 m $\mu$ ), et ultrafiltration de ce mélange à travers toute une gamme de membranes. L'écart de 150 m $\mu$  à 15 m $\mu$ , par exemple, se maintiendra-t-il ?

2° En outre, cherchons si des différences de dimensions existent entre des ultravirus cultivant dans le même système tissulaire (cerveau, peau) ;

3° Enfin, une dernière preuve nous sera fournie par la constatation d'écarts entre la taille de deux virus provocateurs de maladies identiques, quant à leurs caractères cliniques, mais différentes étiologiquement parlant, tous deux s'étant développés dans le même milieu organique.

Or, à tous ces problèmes, l'expérience répond de telle manière que nous sommes obligatoirement conduits à reconnaître que les données numériques fournies par l'ultrafiltration, et, jusqu'à un certain point, par la centrifugation différentielle, ont une grande part de réalité objective.

En effet, divers auteurs, en particulier Elford et Galloway, de même que Levaditi, Païc et leurs collaborateurs (*loc. cit.*), ont reconnu que le bactériophage, incorporé à une émulsion cérébrale contenant le virus de l'herpès, continue à traverser des membranes qui retiennent ce dernier ultragerme. Non pas que le colmatage par les protéo-lipoïdes névraxiques soit totalement inopérant, quant à la perméabilité des pores, au contraire, mais des formules de correction (Elford) permettent d'éluder ce facteur de trouble, en sorte que le fait de la constance des dimensions calculées, en dépit de l'influence du milieu enrobant, apparaît hors conteste. Par ailleurs, nous possédons des exemples montrant que des ultragermes neurotropes ayant pullulé dans la même ambiance protéo-lipoïdique cérébrale, ou médullaire, se révèlent possédant des diamètres dissemblables (herpès = 100 m $\mu$  à 150 m $\mu$  ; encéphalite équine = 20 m $\mu$  à 30 m $\mu$  ; poliomyélite = 12 m $\mu$  à 15 m $\mu$ ). Le même ultravirus offre une taille unique, peu importe s'il provient du cerveau, du sang, du plasma ou du liquide pleural ; la peste aviaire (Levaditi, Païc, Haber et Krassnoff, *loc. cit.*) et la stomatite vésiculeuse en sont des exemples. Enfin, une des

TABLEAU VI. — Dimensions et milieux.

MILIEU	VIRUS	DIMENSIONS en $\mu$
Bouillon . . . . .	Le plus petit bactériophage S13.	8 à 12
	Le plus gros bactériophage.	50 à 75
Sérum-plasma . . . . .	Peste aviaire.	60 à 90
Liquide vésiculaire . . . . .	Fièvre aphteuse.	8 à 12
	Stomatite vésiculeuse.	70 à 100
Foie . . . . .	Rift Valley fever.	23 à 35
	Ectromélie infectieuse.	100 à 150
Tissu sarcomateux . . . . .	Sarcome de Rous.	100
Peau . . . . .	Virus des canaris.	125 à 175
Testicule . . . . .	Vaccine.	125 à 175
	Poliomyélite.	8 à 12
	Louping-ill.	15 à 20
	Encéphalite Saint-Louis.	20 à 30
	Maladie de Borna	85 à 125
	Pseudo-rage	100 à 150
	Herpès.	100 à 150
	Nicolas-Favre.	110 à 150
Cerveau ou moelle . . . . .		

meilleures preuves, et des plus convaincantes, nous est fournie par l'étude comparative de deux maladies, en tous points identiques, quoique provoquées par des ultragermes disséminables quant à leurs affinités névrauxiques et leurs propriétés antigéniques [Galloway et Elford (106)] : la *fièvre aphteuse* et la *stomatite vésiculeuse*. Or, si l'on a soin de soumettre à l'ultrafiltration le virus aphteux et celui de la stomatite, prélevés tous deux dans le même milieu, représenté par la sérosité des vésicules aphteuses du cobaye, on constate qu'en dépit de l'uniformité de ce milieu, le premier de ces agents a un diamètre de 8  $\mu$  à 12  $\mu$ , alors que le second atteint des dimensions voisines de 70  $\mu$  à 100  $\mu$  [Cf. Levaditi, Païc, Krassnoff et Voet (107)].

Voici, d'ailleurs, deux tableaux (VI et VII) montrant l'absence d'interdépendance des dimensions moyennes des ultragermes pathogènes et du milieu qui les enrobe.

Ainsi, nul doute possible, *les dimensions des ultragermes et des bactériophages, calculées d'après la méthode d'Elford,*

(106) GALLOWAY et ELFORD. *Brit. Journ. of exp. Pathol.*, **16**, 1935, p. 588.

(107) LEVADITI, PAÏC, KRASSNOFF et VOET. *C. R. Soc. Biol.*, **122**, 1936, p. 619.

TABLEAU VII. — Dimensions par ordre de taille et milieux.

VIRUS	MILIEUX	DIMENSIONS en m $\mu$
Le plus petit bactériophage S43.	Bouillon.	8 à 12
Fièvre aphteuse . . . . .	Vésicules.	8 à 12
Poliomyélite . . . . .	Moelle.	8 à 12
Louping-ill . . . . .	Cerveau.	15 à 20
Encéphalite Saint-Louis . . . . .	Cerveau.	20 à 30
Rift Valley-fever. . . . .	Foie.	23 à 33
Le plus gros bactériophage C16.	Bouillon.	50 à 75
Peste aviaire. . . . .	Liquide péricardique, sérum, plasma.	60 à 90
Stomatite vésiculeuse . . . . .	Liquide vésiculaire.	70 à 100
Maladie de Borna . . . . .	Cerveau.	85 à 125
Sarcome de Rous . . . . .	Tissu vasculaire.	100
Pseudo-rage . . . . .	Cerveau.	100 à 150
Herpès . . . . .	Cerveau.	100 à 150
Ectromélie infectieuse . . . . .	Foie.	100 à 150
Nicolas-Favre . . . . .	Cerveau.	110 à 150
Vaccine . . . . .	Testicules.	125 à 175
Virus des canaris . . . . .	Peau.	125 à 175

révèlent des écarts de taille relativement considérables, entre les unités virulentes et lytiques, et constituent une preuve de plus en faveur de leur pluralité et de leur spécificité. Qu'il y ait toute une échelle de grandeurs, personne ne saurait en douter, mais de là à affirmer, d'une manière péremptoire, que les chiffres calculés sont absolument vrais, et que de nouveaux procédés de mesure, plus perfectionnés que ceux dont on s'est servi jusqu'à présent, ne modifieront pas, dans un sens ou dans l'autre, les valeurs des diamètres moyens des unités actives, ce serait outrepasser une judicieuse valorisation des données acquises à l'heure actuelle.

## ESSAIS DE SÉROTHÉRAPIE PRÉVENTIVE ANTIVACCINALE

par J. BRIDRÉ et M. BARDACH.

Les expériences que nous allons rapporter brièvement datent de 1931 et 1932. Nous avons remis leur publication, espérant les compléter un jour. Mais nos collègues et amis, MM. Césari et Paul Boquet ayant, de leur côté, entrepris des recherches du même ordre et obtenu, par des moyens un peu différents, des résultats comparables aux nôtres, nous pouvons aujourd'hui les faire connaître.

L'idée de se servir du sang ou du sérum d'animaux vaccinés pour prévenir l'éruption vaccinale ou variolique n'est certes pas nouvelle puisque, dès 1877, Raynaud transfusait du sang de veau vacciné à un veau sain qu'il protégeait ainsi contre l'inoculation de la vaccine. Mais c'est à partir des expériences de Straus, Ménard et Chambon et surtout de celles de A. Béclère, Chambon et Ménard (1896) que la sérothérapie antivaccinale ou antivariolique s'est trouvée placée dans le domaine du possible.

Pourtant, les expérimentateurs se succèdent, nombreux, et obtiennent des résultats on ne peut plus discordants (1). C'est que le sérum d'animaux vaccinés ne possède qu'un pouvoir préventif assez réduit, qu'il est nécessaire d'en injecter de grandes quantités aux animaux que l'on veut protéger, et que, par surcroît, d'après les expériences mêmes de Béclère et de ses collaborateurs, ses propriétés immunisantes ne sont pas renforcées d'une façon appréciable par des injections répétées de virus vaccinal sous la peau de l'animal fournisseur.

Ainsi, malgré les premiers résultats assez encourageants

(1) La revue des travaux ayant trait à la sérothérapie antivaccinale, ainsi que leur bibliographie se trouvent dans le mémoire de MM. Césari et P. Boquet qui ont bien voulu s'en charger.

constatés par Bécclère, le problème de la sérothérapie de la variole humaine est resté presque entier.

L'idée qui nous a incités à entreprendre les essais exposés dans ce travail était celle-ci : la plupart des recherches de nos prédécesseurs ont été pratiquées avec le vaccin de génisse, virus relativement peu pathogène. Le hasard ayant placé entre nos mains une souche de variole spontanée du lapin extrêmement pathogène et que l'on peut comparer par ses manifestations à la variole humaine (2), nous avons pensé qu'avec un tel antigène il serait possible de préparer un sérum vraisemblablement plus actif que ceux obtenus jusqu'ici, et que, d'autre part, l'étude des propriétés de ce sérum sur les manifestations de la variole du lapin pourrait fournir des données intéressantes en vue d'un traitement éventuel de la variole humaine, but suprême de notre travail. On comprend ainsi les raisons qui nous ont fait étudier uniquement l'action du sérum *in vivo* et à distance, puisque ce n'est guère que de cette façon qu'une intervention sérothérapique puisse être envisagée.

Les virus utilisés dans nos expériences ont été : 1° le vaccin de l'Institut de vaccine animale (V) ; 2° le virus de la variole spontanée du lapin dont nous parlons plus haut, entretenu au laboratoire sous le nom de « neuro-lapine » (N L).

L'animal fournisseur de sérum a été tout d'abord le lapin, ensuite le cheval, et les essais de sérothérapie ont porté sur des lapins, des cobayes et des souris.

(2) Rappelons que ce virus a été isolé en 1930 par Bardach et entretenu par passages dans le cerveau de lapins. Le virus a tous les caractères du virus de la vaccine avec un pouvoir pathogène considérablement exalté : la « neuro-lapine » produit sur la peau du lapin des lésions beaucoup plus importantes que celles qui résultent de l'inoculation du vaccin de génisse ou de la neurovaccine et provoque fréquemment des généralisations à terminaison fatale. Les pustules s'entourent d'une zone hémorragique et se terminent par des escarres de grandes dimensions. L'introduction du virus dans la plèvre ou dans le péritoine donne lieu à une pleurésie ou une péritonite mortelle. (*C. R. Soc. de Biologie*, **107**, 18 juillet 1931, p. 1468 ; **109**, 9 avril 1932, p. 1084 ; **110**, 28 mai 1932, p. 253.)

## A. — SÉRUM DE LAPINS HYPERIMMUNISÉS.

Les lapins fournisseurs de sérum, d'abord immunisés contre la vaccine, recevaient, à diverses reprises, du virus N L sous la peau ou dans le péritoine.

EXPÉRIENCE I. — 25 juin 1931. Un lapin C26 (1.535 grammes) reçoit 5 cent. cubes de sérum en injection sous-cutanée.

Un deuxième lapin C27 (1.800 grammes) reçoit 20 cent. cubes du même sérum.

26 juin. Les deux lapins ci-dessus et un lapin témoin C28, sont inoculés par un même nombre (6) de scarifications croisées sur la peau rasée, au moyen de virus V.

Résultats peu démonstratifs. On observe seulement une évolution un peu plus rapide des lésions chez les deux lapins traités C26 et C27.

EXPÉRIENCE II. — Même expérience que ci-dessus, mais l'épreuve est pratiquée au moyen du virus N L.

1<sup>er</sup> juillet 1931. Un lapin C29 a reçu la veille 5 cent. cubes de sérum.

Un deuxième lapin C30 a reçu 10 cent. cubes du même sérum.

Tous deux sont inoculés en même temps qu'un lapin témoin C31, par scarification sur la peau rasée.

LAPIN C29  
(sérum : 5 cent. cubes)

LAPIN C30  
(sérum : 10 cent. cubes)

LAPIN C31  
(témoin)

6 juillet :

Belle éruption le long des scarifications. La peau présente autour des pustules une zone violet foncé. Les scarifications sont nettement distinctes.

Belle éruption sans changement notable de la teinte de la peau autour des pustules.

Belle éruption. Une grande partie de la surface rasée prend une teinte violette avec épaississement du derme.

8 juillet :

La peau est violette le long des scarifications, mais les pustules sont déjà sèches. La réaction semble avoir avorté.

On distingue les scarifications sous forme de lignes rouge brun. Pas de pustules à proprement parler. Pas de teinte violette de la peau.

La surface ensemencée est violette, œdémateuse. Pustules de généralisation.

D'autres expériences qu'il nous semble inutile de rapporter ont confirmé ces premiers résultats qui montrent : 1° une action préventive du sérum, action qui se traduit surtout par

une évolution plus rapide des lésions provoquées ; 2° une action nette sur les effets toxiques locaux du virus N L (3).

Cette dernière constatation était encourageante. Il était utile, pour avoir une plus grande quantité de sérum, de s'adresser à un animal de forte taille. M. Roux, qui voulait bien s'intéresser à nos expériences, mit un cheval à notre disposition.

#### B. — SÉRUM DE CHEVAL HYPERIMMUNISÉ.

Deux chevaux ont servi successivement à nos expériences. Ils étaient d'abord inoculés par scarification sur la peau de l'encolure au moyen de vaccin de génisse et de virus de neuro-lapine. Ils recevaient ensuite, par voie sous-cutanée, chaque semaine, au début un demi, puis un cerveau et plus de lapins ayant succombé à l'inoculation intracérébrale de neuro-lapine.

#### *Expériences sur des lapins.*

Elles ont été nombreuses, mais gênées, toutes, par l'action toxique du sérum pour le lapin ; c'est que, par la nature même de l'antigène injecté au cheval, le sérum obtenu était non seulement antivaccinal, mais aussi « anti-lapin ». Nous donnerons comme exemple l'une des dernières :

2 juin 1932. Un lapin B52 reçoit, dans la veine, 1 cent. cube d'une dilution à 1/10 de sérum de cheval anti-N L.

Un deuxième lapin B53 reçoit, de la même façon, 10 cent. cubes de la même dilution.

(Ces injections de sérum à très faible dose étaient pratiquées dans l'espoir de rendre les animaux moins sensibles à l'égard du sérum).

3 juin 1932. Les deux lapins ci-dessus reçoivent chacun 20 cent. cubes de sérum en deux injections sous-cutanées de 10 cent. cubes.

4 juin 1932. Inoculation des lapins B52 et B53 ainsi que d'un lapin témoin B54 :

1° Dans la peau du dos (ID), injection de 1 cent. cube de suspension de cerveau virulent ;

2° Sur la peau (C), scarifications recouvertes de la même suspension.

(3) Rappelons que le pouvoir antivaccinal de notre sérum a été constaté également dans des expériences de sérothérapie locale par Besredka et Bardach. (*C. R. Soc. de Biologie*, **112**, 11 février 1933, p. 533).

5 juin 1932. Le sérum a provoqué chez les deux lapins traités un fort œdème sous-abdominal.

LAPIN B52 (sérum : 20 cent. cubes)	LAPIN B53 (sérum : 20 cent. cubes)	LAPIN B54 (témoin)
6 juin :		
ID : Réaction de 2 centimètres de diamètre. C : ?	ID : Petite réaction violacée. C : ?	ID : Réaction. C : Eruption au début.
7 juin :		
Mort.	ID : Réaction nettement délimitée sans augmentation. C : ?	ID : Réaction plus forte que la veille. C : L'éruption évolue.
9 juin :		
	ID : Sans changement notable. C : Pas de réaction.	ID : Forte réaction avec gros œdème et escarre en formation. C : Belle éruption, pustules confluentes; peau violacée.
10 juin :		
Mort.		

Le sérum a montré un pouvoir préventif indéniable, mais sa toxicité pour le lapin était trop accusée pour que des expériences précises et probantes pussent être poursuivies sur cette espèce.

#### *Expériences sur des cobayes.*

Sur 5 expériences pratiquées sur des cobayes et portant chaque fois sur 10 à 20 animaux, une seule a fourni un résultat assez favorable. Dans les autres, la sensibilité individuelle des animaux a paru jouer un rôle prépondérant, et elle s'est montrée tellement variable chez les animaux témoins qu'il serait difficile de tirer de nos expériences une conclusion à l'abri de la critique.

*Expériences sur des souris (4).*

Ces expériences consistaient à traiter préventivement des souris au sérum par voie sous-cutanée et à inoculer ces souris dans le cerveau avec une suspension de cerveau virulent centrifugée. (Le cerveau employé était celui d'un lapin ayant succombé à l'inoculation intracérébrale de neuro-lapine).

2 mai 1932. Lot a) : 2 souris reçoivent 1 cent. cube de sérum normal de cheval ;

Lot b) : 2 souris reçoivent 0 c. c. 5 du même sérum normal de cheval ;

Lot c) : 2 souris reçoivent 1 cent. cube de sérum préparé ;

Lot d) : 2 souris reçoivent 0 c. c. 5 de sérum préparé.

3 mai 1932. Les 8 souris ci-dessus et 4 souris témoins (lot t) sont inoculées dans le cerveau avec le virus N L.

	LOT a (2) (1 cent. cube de sérum normal)	LOT b (2) (0 c. c. 5 de sérum normal)	LOT c (2) (1 cent. cube de sérum préparé)	LOT d (2) (0 c. c. 5 de sérum préparé)	LOT t (4) (témoin)
6 mai, matin					1 mort.
6 mai, soir. .		1 mort.			
7 mai, soir. .	1 mort.	1 mort.			1 mort.
8 mai, matin. .	1 mort.				1 mort.
8 mai, soir. .					1 mort.
9 mai, soir. .				1 mort.	
13 mai, soir. .			1 mort (pneumonie).		
20 mai . . . .	Restent vivantes : 1 souris du lot c, 1 souris du lot d.				

*L'action protectrice du sérum de cheval préparé contre la neuro-lapine est manifeste.*

Une deuxième expérience fournit un résultat analogue.

## CONCLUSIONS.

Bien que nos expériences soient, comme nous l'avons dit dès le début, incomplètes, nous pouvons en tirer les conclusions suivantes qui confirment celles de certains de nos prédé-

(4) On sait que la « neuro-lapine » inoculée dans le cerveau de la souris provoque généralement une méningo-encéphalite mortelle (C. R. Soc. de Biologie, 114, 2 décembre 1933, p. 1064).

cesseurs : Bezzel, Chambon et Ménard ; Freyer, Wurtz et Huon ; L. Camus, Elliot, Voigt, Denier, etc.

Il est possible, avec le virus de la neuro-lapine, de préparer chez le lapin ou chez le cheval un sérum anti-vaccinal. Le sérum obtenu, administré par voie sous-cutanée, montre à distance un pouvoir préventif indiscutable mais de valeur limitée. Son action se manifeste surtout par une évolution plus rapide des lésions vaccinales, mais il est capable aussi d'atténuer et même d'annihiler les phénomènes locaux de nature apparemment toxique qui accompagnent les lésions produites par un virus très actif tel que celui de la neuro-lapine.

## PRÉPARATION D'UN SÉRUM ANTIVACCINAL AVEC LE TESTICULO-VACCIN

par E. CLEARI et PAUL BOQUET.

(Institut Pasteur.)

Après que Reynaud eut constaté (1877) qu'une génisse à laquelle on injecte le sang d'un animal porteur de pustules vaccinales ne prend plus la vaccine, l'idée de conférer, à des animaux seuls, un état d'immunité à l'égard de la vaccine, au moyen d'un immunosérum spécifique, a été développée par Baran, Chambon et Méneard (1896), Bédère, Chambon et Méneard (1898), Freyre (1904), Camus (1912), Harscoet et Crovent (1912), puis par H. A. Goss (1910-1921), Hoandel, Goldenshteyn et Schmitt (1921), Ledingham (1926), Gordon (1928), Schernheim (1929), Andrews (1928-1929) et d'autres auteurs.

Les sérums préparés jusqu'à ce jour, en hyperimmunisant des chevaux, des bovidés, ou des lapins, par des inoculations répétées de virus vaccinal, sont restés dans le domaine de l'expérimentation. Cependant l'intérêt pratique d'un sérum antivaccinal doué d'un pouvoir antitoxique élevé ne serait pas négligeable. Non seulement un tel sérum pourrait être appliqué au traitement des complications de la vaccine, telles que les éruptions étendues, généralisées, ou hémorragiques (1), mais encore, étant donnée la communauté antigénique des virus de la vaccine et de la varicelle, on peut penser qu'il constituerait une arme efficace contre cette dernière maladie (Bédère, 1898; Wurtz et Huon, 1916; Urbani, 1922).

À la demande du professeur Boret, nous avons préparé, en 1936, un sérum antivaccinal en hyperimmunisant un cheval par des injections sous-cutanées d'un vaccin pur testiculo-vaccin.

(1) Malgré les hypothèses très diverses émises sur l'origine de l'encéphalite vaccinale, il serait intéressant de connaître les effets thérapeutiques du sérum antivaccinal sur cette maladie.

Ce vaccin, mis à notre disposition par le professeur Borrel, était entretenu par des passages, toutes les trois semaines environ, dans le testicule du lapin, où il déterminait rapidement une orchite importante.

Des fragments de l'organe infecté étaient prélevés sur l'animal d'épreuve, sacrifié trois jours après l'inoculation, puis conservés dans l'eau distillée stérile glycinée à 30 p. 100.

Le virus vaccinal utilisé provenait d'une souche de neuro-vaccine dont Borrel a défini ainsi les caractères : « ...Elle est virulente aussi bien pour le cerveau que pour le testicule. Elle donne chez le lapin des pustules hémorragiques œdémateuses... Ce virus, introduit dans le péritoine du lapin, donne exactement les lésions décrites avec le virus claveleux chez l'agneau : liquide œdémateux, très abondant dès le troisième jour, épaississement et adhérences des feuillets épiploïques... »

Afin de pouvoir inoculer de grandes quantités d'antigène à l'animal destiné à fournir l'immunsérum, le testiculo-vaccin était injecté, à la dose de 1 à 3 cent. cubes, dans le péritoine d'un lapin neuf, selon la technique préconisée par M. Bardach (1932), puis par A. Borrel (1936).

Trois jours après l'inoculation, l'animal était sacrifié et, avec toutes les précautions d'asepsie nécessaires, 20 à 50 cent. cubes d'exsudat étaient recueillis. On prélevait alors séparément l'épiploon que l'on broyait finement dans un appareil de Borrel ou de Latapie. Additionnée de l'exsudat péritonéal, la pulpe ainsi obtenue était injectée, le jour même, sous la peau d'un cheval.

#### I. — MÉTHODE D'HYPERIMMUNISATION DU CHEVAL 105.

Le 10 avril 1936, le cheval 105 reçoit dans la peau de l'encolure une dizaine d'injections de 0 c. c. 5 de pulpe vaccinale glycinée (vaccine jennérienne).

Une semaine plus tard, le 18 avril 1936, alors que les premières pustules sont en pleine évolution, on inocule pour la seconde fois, dans la peau de la même région, en une dizaine de points, les mêmes doses de pulpe vaccinale.

A partir du 25 avril 1936, chaque semaine, et pendant neuf semaines, le cheval 105 reçoit, sous la peau, les produits de

broyage d'un épiploon vaccinal additionné d'exsudat péritonéal virulent, aux doses de 20, 40, puis 50 cent. cubes.

A la suite des premières inoculations, l'animal réagit par un œdème modéré ; mais, à la sixième injection, un énorme œdème du flanc se développe, sans s'accompagner d'élévation de la température (réaction d'hypersensibilité).

A partir de la dixième injection, la dose administrée correspondait aux produits de broyage de deux épiploons, additionnés d'exsudat péritonéal. Le volume d'antigène injecté était alors de 60 cent. cubes.

Les dernières injections furent effectuées à quinze jours d'intervalle. L'immunisation fut suspendue le 22 octobre 1936, après la dix-neuvième injection.

On effectua des saignées les 8 juin, 6 juillet, 22 octobre, avant les injections d'antigène, et le 6 novembre, deux semaines après la dernière injection.

## II. — MESURE DE L'ACTION ANTIVIRULENTE DU SÉRUM 105.

L'action antivirulente des sérums obtenus a été appréciée en mesurant *in vivo* les effets de mélanges, en proportions variables, de vaccin et de sérum (Sternberg, 1892 ; Béchère, Chambon et Ménard, 1899 ; Henseval et Convent, 1912 ; Gins, 1916 ; Gordon, 1925 ; Andrewes, 1928 ; Ledingham, Morgan et Petrie, 1931).

L'animal réactif était le lapin ; le virus d'épreuve, une émulsion de pulpe vaccinale dans la glycérine (vaccine jennérienne). Cette pulpe, placée dans des tubes, à + 4°, constituait pendant toutes nos expériences, notre échantillon « étalon » de vaccin, dont la virulence fut régulièrement contrôlée par inoculation à l'animal.

La technique appliquée a été la suivante :

A. La virulence du vaccin étalon est tout d'abord mesurée en déposant des quantités décroissantes de ce vaccin à la surface de scarifications cutanées très légères, longues de 10 millimètres, et distantes de 8 centimètres, sur les flancs largement épilés de 2 lapins (2).

(2) La méthode des injections intradermiques (Groth, 1921) qui nous a donné des résultats inconstants au cours des différents titrages, a été

On émulsionne à cet effet 100 milligrammes de pulpe étalon dans 1 cent. cube d'eau physiologique. Cette « émulsion mère » est ensuite diluée dans l'eau physiologique, au 1/2, au 1/4, au 1/16 et au 1/32. Une goutte (3) de chacune de ces dilutions (0 c. c. 05) est alors déposée sur les scarifications cutanées. La lecture des réactions est effectuée chaque jour, jusqu'au développement complet des pustules. La dose minima de vaccin, capable de déterminer l'éclosion d'une vésicule (dose minima infectante) fut constante au cours des sept mois que dura l'expérimentation. Cette dose était de 1 goutte d'une dilution de vaccin au 1/16, soit 0 milligr. 3 de la pulpe étalon glycinée, ou très approximativement 0 c. c. 0003.

B. L'action antivirulente du sérum est alors appréciée en mélangeant une quantité fixe de pulpe vaccinale à des quantités décroissantes de sérum spécifique. A cet effet, on verse dans une série de petits verres cylindriques, 11 gouttes de la dilution de vaccin au 1/2 (soit 50 milligrammes de pulpe par centimètre cube), puis on ajoute, au contenu du premier verre, 11 gouttes de sérum 105 dilué au 1/1.000 ; à celui du second verre, 11 gouttes de sérum 105 dilué au 1/100 ; à celui du troisième verre 11 gouttes du même sérum dilué au 1/10. Une série de petits verres, reçoit des mélanges témoins de vaccin et de sérum normal de cheval dans les mêmes proportions.

Après trente minutes de séjour à 37°, les mélanges sont agités, puis inoculés par des scarifications cutanées (identiques à celles décrites précédemment), à des lapins de 2.000 à 2.500 grammes. La quantité du mélange sérum + vaccin déposé sur chaque scarification est de 11 gouttes (soit 2 milligr. 5 de vaccin + 0 c. c. 05 de sérum au 1/10, au 1/100 ou au 1/1.000).

Deux lapins sont éprouvés avec les mélanges de vaccin et d'immunsérum : un lapin témoin est inoculé avec les mélanges de vaccin et de sérum normal de cheval.

Le sérum du cheval 105 ne jouissait, avant la vaccination de

abandonnée. Sans doute, comme Groth puis Gins l'ont remarqué, convient-il d'attribuer certains échecs à la sensibilité cutanée différente des lapins utilisés.

(3) Mesurée au moyen de pipettes compte-gouttes donnant XX gouttes au centimètre cube.

FIG. 1.

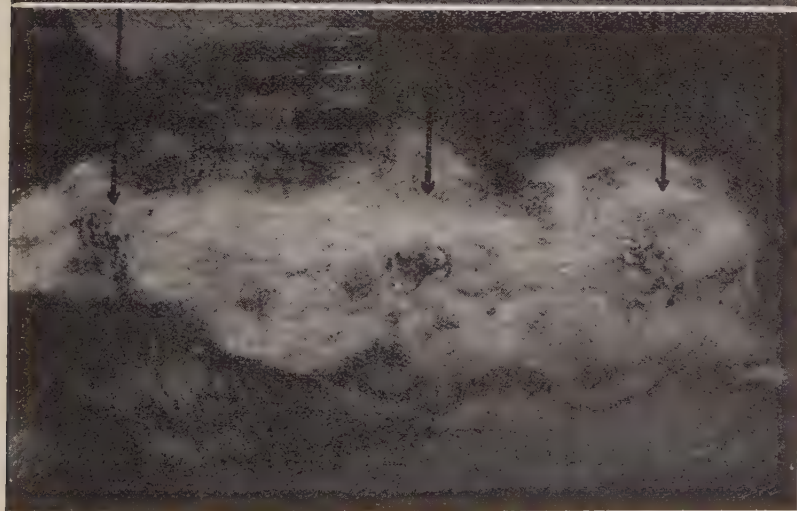
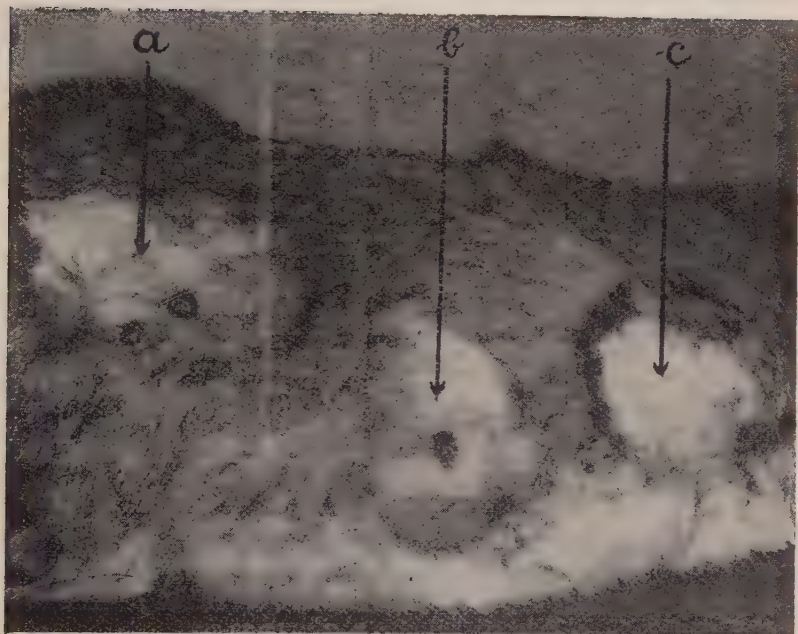


FIG. 2.

FIG. 1 et 2. — Pustules vaccinales, au neuvième jour de leur évolution, chez des lapins éprouvés avec des mélanges de vaccin et de sérum (a, au 1/1.000°; b, au 1/100°; c, au 1/10°). En haut, immunsérum (saignée du 22 décembre); en bas, sérum normal.

cet animal, d'aucune propriété antivirulente à l'égard du vaccin.

Les résultats des titrages effectués au cours de l'immunisation, sont indiqués dans le tableau suivant.

DOSE .. de vaccin étalon inoculée .	QUANTITÉ DE SÉRUM mélangé au vaccin 30 minutes avant l'inoculation (en centimètre cube)	RÉSULTATS						
		Saignée du 6 juillet		Saignée du 22 octobre		Saignée du 6 novembre		Sérum norma (3 lapin
		Lapin 1	Lapin 2	Lapin 1	Lapin 2	Lapin 1	Lapin 2	
<i>I goutte d'une dilution à 50 milligr. de pulpe par centimètre cube, soit 2 milligr. 5 de pulpe glycerinée.</i>	0,00005	++++	++++	+++ RM	+++ RM	+++ RM	+++ RM	+++
	0,0005	++++	++++	++ RM	++ RM	++ RM	N	+++
	0,005	+++ RM	+++ RM	+ RM	N	N	N	+++
++++, grosse vésicule le sixième jour; +++, ++, +, réaction de moins en moins importante; RM, réaction modifiée; N, neutralisation.								

L'action antivirulente du sérum, faible après trois mois d'immunisation est devenue nette au cours du sixième mois. A la dose de 0 c. c. 005, ce sérum neutralisait alors 2 milligr. 5 de pulpe vaccinale.

Si les doses inférieures ne s'opposaient pas complètement au développement des vésicules, elles en modifiaient néanmoins l'aspect morphologique, ainsi qu'en témoignent les figures 1 et 2. Celles-ci sont moins étendues, moins volumineuses que celles de l'animal témoin. L'évolution accélérée des vésicules fut comparable à celle d'un animal vacciné. Alors qu'au sixième jour de la maladie, les animaux témoins présentaient de grosses lésions vésiculeuses, les animaux infectés par des mélanges de sérum spécifique et de vaccin étaient porteurs de petites pustules en voie de dessiccation.

Cette action était manifeste, après trois mois d'immunisation, dans les mélanges contenant au moins 0 c. c. 005 de sérum ; elle était encore décelable dans les mélanges conte-

nant 0 c. c. 00005 d'un autre échantillon de sérum prélevé trois mois plus tard.

Des essais de transmission de l'immunité antivaccinale au lapin, furent tentés, mais sans succès. La toxicité du sérum 105 pour cet animal (sérum cytotoxique antilapin) constituait un obstacle à notre expérimentation. De fortes doses de sérum (10 cent. cubes) introduites par voie veineuse déterminaient en effet chez l'animal des accidents rapidement mortels ; des doses plus faibles, 5 cent. cubes et 1 cent. cube, ne modifiaient pas l'évolution des vésico-pustules de la vaccine développées sur des scarifications cutanées enduites de pulpe vaccinale glycinée, quelques instants après l'injection intraveineuse du sérum.

Nos expériences sur ce point n'ont pas été poursuivies.

#### RÉSUMÉ ET CONCLUSION.

Un cheval hyperimmunisé pendant sept mois par des injections sous-cutanées de testiculo-vaccin, a fourni un sérum dont l'action antivirulente à l'égard de la vaccine jennérienne fut mesurée sur le lapin. A cet effet, des mélanges d'une dose fixe de pulpe vaccinale et de quantités variables de sérum spécifique furent déposés, après un séjour de trente minutes à 37°, sur des scarifications de la peau.

Quoique modérée après sept mois d'immunisation, l'action antivirulente du sérum était suffisante pour neutraliser les effets du virus vaccinal dans un mélange contenant 2 milligr. 5 de pulpe étalon glycinée et 0 c. c. 005 de sérum.

Aux doses plus faibles, l'action du sérum sur le vaccin s'est traduite par des modifications portant sur l'aspect morphologique des lésions vaccinales cutanées.

L'évolution accélérée des vésicules était alors comparable à celle que l'on observe chez les animaux vaccinés activement, et en état d'allergie.

#### BIBLIOGRAPHIE

- ANDREWES (C. H.). *Journ. of path. and bact.*, **31**, 1928, p. 671.  
BARDACH (M.). *C. R. Soc. Biol.*, **109**, 1932, p. 1084.  
BÉCLÈRE (A.). *Soc. Méd. Hôp.*, **13**, 1896, p. 10.

- BÉCLÈRE, CHAMBON et MÉNARD. *Ces Annales*, **10**, 1896, p. 1 ; *Ibid.*, **12**, 1899, p. 81.
- BORREL (A.). *C. R. Soc. Biol.*, **121**, 1936, p. 1084.
- CAMUS (L.). *Journ. de Physiol. et de path. génér.*, **14**, 1912, p. 782.
- CALMETTE (A.) et GUÉRIN (C.). *Ces Annales*, **15**, 1901, p. 161.
- FREYER. *Zbl. f. Bakt., Abt. Orig.*, **36**, 1904, p. 272.
- GINS (H.-A.). *Deutsch. med. Wochen.*, 1925, p. 1515 ; *Handbuch der Pockenbekämpfung* (Lentz et Gins), Berlin, 1927.
- GORDON (M.-H.). *Spec. Rep. Ser. Med. Res. Coun.*, 1925, n° 98.
- GROTH. *Ztschr. f. Hyg.*, **92**, 1921, p. 129.
- HAENDEL, GILDEMEISTER et SCHMITT. *Zbl. f. Bakt., I. Abt. Orig.*, **85**, 1921, p. 126.
- HENSEVAL et CONVENT. *Bull. Acad. Roy. de Méd. Belgique*, **26**, 1912, p. 251.
- LEDINGHAM, MORGAN et PETRIE. *Brit. Journ. of exp. Path.*, **12**, 1931, p. 357.
- LEVADITI et NICOLAU. *Ces Annales*, **37**, 1923, p. 1.
- RAYNAUD (M.). *C. R. Acad. des Sc.*, **84**, 1877, p. 453.
- SOBERNHOFM. In LENTZ (O.) et GINS (H. A.), *Handbuch der Pockenbekämpfung*, Berlin, 1927.
- STRAUS, CHAMBON et MÉNARD. *C. R. Soc. Biol.*, **42**, 1890, p. 72.
- STERNBERG. *A Manual of Bacteriology*, New-York, 1892.
- URBANI. *Pathologica*, **14**, 1922, p. 289.
- WURTZ et HUON. *C. R. Acad. des Sc.*, **163**, 1916, p. 311.

## ÉTUDES DE SYSTÉMATIQUE BACTÉRIENNE

### III. INVALIDITÉ DU GENRE *BACTEROIDES* CASTELLANI ET CHALMERS DÉMEMBREMENT ET RECLASSIFICATION [1]

Par A.-R. PRÉVOT.

Le terme générique *Bacteroides* a été proposé par Castellani et Chalmers en 1919 [2] pour réunir « les anaérobies stricts non sporulés, non fluorescents, non pigmentés, poussant bien sur les milieux ordinaires ».

Jusqu'en 1919, ces espèces étaient rattachées pour la plupart au genre *Bacillus*, bien à tort d'ailleurs, puisqu'elles sont toutes asporulées, alors que *Bacillus*, historiquement, est un genre sporulé, dont l'espèce-type est *Bacillus subtilis* (\*).

Si, en 1919, le fait d'avoir retiré au genre *Bacillus* une centaine d'espèces qui ne lui appartenaient pas constituait un progrès en systématique, aujourd'hui que cette science présente une tendance universelle à évoluer vers plus de clarté et de logique, ce petit progrès se trouve insuffisant et

(\*) Ce n'est que par mauvaise habitude et par négligence, parfois même par ignorance, qu'on a encombré ce genre d'une multitude d'espèces qui ne lui appartiennent pas. Le fait qu'actuellement le genre *Bacillus* a repris son sens historique, qu'il a été redéfini par le Comité international de nomenclature et accepté dans sa nouvelle définition par le Comité des bactériologistes américains ainsi que par les auteurs de traités (Bergey *et al.* : *Manuel of determinative Bacteriology* ; Hauduroy, Ehringer, Urbain, Guillot et Magrou : *Dictionnaire des Bactéries pathogènes* ; Topley and Wilson : *The principles of Bacteriology and Immunity*, etc.), obligera les bactériologistes à modifier leurs habitudes de langage et de rédaction et à ne plus rattacher au genre *Bacillus* que les espèces légitimement comprises dans sa définition. Nous devons toujours être devant cette vérité qu'on ne connaît actuellement qu'une minime proportion des bactéries existantes, qu'il en reste des milliers à découvrir, à décrire et à classer, et que si on ne prépare pas dès maintenant les grandes lignes d'une classification naturelle, le chaos dans lequel se trouve actuellement la bactériologie ne fera qu'empirer.

demande un nouveau pas en avant. En effet, si on examine la définition du terme *Bacteroides*, on voit qu'elle contient en elle-même sa condamnation. Elle repose sur deux caractères positifs, tous deux d'ordre physiologique : 1° anaérobies stricts ; 2° poussant bien sur milieux ordinaires ; et sur trois caractères négatifs, dont un seul d'ordre morphologique : non sporulé, et les deux autres d'ordre physiologique : non fluorescents, non pigmentés. Ainsi le seul caractère morphologique de cette définition est négatif : non sporulé ; et les caractères physiologiques sont d'une grande banalité. Le résultat de cette absence de limitation est qu'on peut grouper dans ce soi-disant genre les espèces les plus disparates et ne présentant entre elles aucune parenté réelle.

Par exemple on y voit se côtoyer des bâtonnets simples ou très complexes, ramifiés ou non, bifurqués ou non ; porteurs ou non de sphéroïdes ou de renflements en massues, ovoïdes ou filamenteux, etc. ; et les bactériologistes sont conviés à classer dans le même soi-disant genre, les espèces *fragilis* (simple, immobile, Gram-négative), *ramosus* (pseudo-ramifiée, immobile, Gram-positive), *oviformis* (ovoïde), *bifidus* (bifide et porteur de renflements en massue, Gram-positive), *funduliformis* (porteur de sphéroïdes, de renflements, de ramifications, Gram-négative), *israeli* (actinomycète indubitable), *fusiformis* (*id.*), etc. Bien plus, cette non-observation regrettable de la hiérarchie des caractères (1) empêche de rapprocher les unes des autres des espèces manifestement voisines, telles que *funduliformis* (qui pousse bien sur les milieux ordinaires) et *gonidiaformans*, *cariae*, qui ne poussent que sur les milieux à l'ascite ou au sérum. C'est ainsi qu'au cours de ce travail, nous serons amené à nous occuper de plusieurs espèces ne poussant pas bien sur les milieux ordinaires uniquement parce qu'elles sont proches parentes d'espèces « poussant bien sur milieux ordinaires » et qui, par ce fait même, ont été classées dans le soi-disant genre *Bacteroides*.

Examinons maintenant les espèces qui ont été groupées sous ce terme. Aux 16 premières espèces rattachées par

(1) Voir la première partie : *Ann. des Sc. Bot.*, 1933, p. 49.

Castellani et Chalmers à *Bacteroides* (2) et dont voici la liste : *fragilis* (Veillon et Zuber), *oviformis* (Tissier), *cornutus* (Distaso), *variabilis* (Distaso), *pseudoramosus* (Distaso), *tortuosus* (Debono), *angulosus* (Distaso), *acuminatus* (Distaso), *bifidus* (Tissier), *bullosus* (Distaso), *variegatus* (Distaso), *thetaitao-micron* (Distaso), *tenuis* (Distaso), *multiformis* (Distaso), *dimorphus* (Distaso), *funduliformis* (Hallé), les auteurs Eggerth et Gaignon en 1933, puis Eggerth en 1935, en ont ajouté 22 autres : *lentus* (E.), *aerofaciens* (E.), *biformis* (E.), *cateniformis* (E.), *avidus* (E.), *limosus* (E.), *vulgatus* (E. et G.), *uniformis* (E. et G.), *gulosus* (E. et G.), *distasonis* (E. et G.), *uncatus* (E. et G.), *tumidus* (E. et G.), *ovatus* (E. et G.), *vescus* (E. et G.), *convexus* (E. et G.), *exiguus* (E. et G.), *coagulans* (E. et G.), *incommunis* (E. et G.), *inaequalis* (E. et G.), *varius* (E. et G.), *insolitus* (E. et G.), *siccus* (E. et G.).

Enfin, dans leur *Dictionnaire des Bactéries pathogènes*, Hauduroy, Ehringer, Urbain, Guillot et Magrou rattachent en outre à *Bacteroides* les espèces suivantes : *caviae* (Vincent), *floccosus* (Courmont et Cade), *freundi* (Freund), *furcosus* (Veillon et Zuber), *glutinosus* (Guillemot et Hallé), *gonidia-formans* (Tunncliffe et Jackson), *minutus* (Tissier), *niosii* (Niosi), *perfoetens* (Tissier) et sa variété *lacticus* ; *praussnitzii* (Prausnitz), *pyogenes* (Bela Joan et Buday), *ramosus* (Veillon et Zuber), *rectalis* (Grooten), *russi* (Russ), *serpens* (Veillon et Zuber), *streptobacilliformis* (Guillemot et Hallé), *trichoides* (Potez et Compagnon) et *viscosus* (Klinger).

Il suffit d'examiner la description de chacune de ces espèces pour voir qu'elles ne sont pas toutes parentes, et que leur ensemble ne forme pas un groupe homogène naturel, comme on doit l'exiger pour les espèces d'un même genre (3). Non seulement ces espèces n'appartiennent pas à un seul genre, mais bien à des familles et à des ordres différents.

Bien plus, si on devait conserver ce terme générique, on serait obligé de lui ajouter toutes les espèces anaérobies strictes asporulées, non pigmentées, non fluorescentes et

(2) En réalité, C. et G., en avaient rattaché 19, mais il se trouve que trois d'entre elles, *rigidus* (Distaso), *liquefaciens* (Distaso) et *laevis* (Distaso) sont des anaérobies facultatifs.

(3) Voir première partie, *Ibid.*, p. 53.

poussant bien sur milieux ordinaires, c'est-à-dire en tout 120 espèces des plus diverses, des plus éloignées et qui, actuellement réparties à tort ou à raison dans les genres *Bacillus*, *Bacterium*, *Hemophilus*, *Actinomyces*, *Corynebacterium*, etc., ou même non encore classées, attendent encore leur systématique naturelle. Déjà en 1929, O. Rahn, Laubengeyer et Mansfield [3] avaient réfuté le terme *Bacteroides* pour insuffisance de définition ; malheureusement ces auteurs ont rattaché ses espèces au genre *Lactobacillus*, ce qui constitue une hérésie bien plus grave.

Nous proposons donc la suppression pure et simple du terme *Bacteroides* pour insuffisance de précision et absence d'homogénéité parmi les espèces qu'il prétendait grouper. Il devient alors nécessaire de rechercher les véritables lois du groupement naturel des 120 espèces libérées par la caducité de *Bacteroides*.

Les caractères morphologiques généraux de ces espèces vont d'abord nous fournir la base d'une division en deux grands groupes naturels :

*Premier groupe* : Bâtonnets asporulés simples, droits ou légèrement infléchis ; parfois légèrement ovales ou effilés ; mobiles ou non ; parfois encapsulés ; Gram-positifs ou négatifs.

Nous donnerons à ce groupe le nom de *Bacteriales*. D'après notre conception d'évaluation des groupes, nous assignons aux *Bacteriales* la valeur d'un ordre.

*Deuxième groupe* : Bactéries asporulées complexes, polymorphes, présentant des formes droites et infléchies, ou ovoïdes, renflées ; extrémités arrondies ou bifurquées ou effilées ; porteurs de sphéroïdes (réguliers ou irréguliers, de taille plus ou moins grande, libres ou accolés, chromaffines, non résistants à la chaleur et n'ayant pas les caractères de la spore) et de renflements en massue ; métachromasies fréquentes.

On reconnaît dans ce groupe l'ordre des *Actinomycetales* Buchanan 1918

Les caractères cytochimiques vont nous permettre de subdiviser chacun de ces deux ordres en familles :

*Bacteriales* Gram-négatives : *Ristellaceae* nv. fam.

*Bacteriales* Gram-positives : *Bacteriaceae* (Cohn) 1872.

*Actinomycetales* Gram-négatives : *Spherophoraceae* nv. fam.

*Actinomycetales* Gram-positives : *Actinomycetaceae* (Buchanan).

Chacune de ces familles renfermant des genres connus ou nouveaux va être étudiée en détail.

## A. — Bactériales.

### I. — RISTELLACEAE NOUV. FAM.

Parmi les *Bacteriales* Gram-négatives, on rencontre tout d'abord des formes immobiles, aciliées, appartenant indubitablement à deux genres connus, bien définis et universellement admis. L'un d'eux est le genre *Dialister* Bergey et al. 1923, dont l'espèce-type est *D. pneumosintes* (O. et G.) Bergey. L'autre, *Pasteurella* Trevisan, ne comprenait jusqu'ici que des espèces aérobies ou facultatives ; cependant plusieurs auteurs, dont Levinthal [4], avaient pensé que certaines espèces anaérobies strictes pouvaient être classées à côté des espèces facultatives du genre *Pasteurella*, car elles en présentaient la morphologie si spéciale : bâtonnets ovales, en navettes, immobiles, coloration bipolaire ; fréquence des formes involutives. Malheureusement la description de Levinthal concernant sa *Pasteurella anaerobiontica* est nettement insuffisante, et ne peut être retenue ici. Les espèces anaérobies strictes que nous classons dans le genre *Pasteurella* Trevisan sont au nombre de quatre : *ovata*, *convexa*, *vulgata* et *coagulans* E. et G. Elles avaient été classées par Eggerth et Gaignon dans le terme *Bacteroides*.

Parmi les espèces immobiles, aciliées, restant à classer, on distingue deux genres, dont le premier groupera toutes les espèces non encapsulées, et le second les espèces encapsulées. Ces deux genres étant nouveaux, nous les nommerons : le premier *Ristella* nv. gen. (en hommage au bactériologiste E. Rist [5] qui a le plus contribué à les faire connaître (4), et

(4) Dans un mémoire récent, Orla-Jensen [13] s'élève contre l'emploi des noms propres en nomenclature bactériologique. Nous ferons

l'autre : *Capsularis* nv. gen. Enfin, les espèces mobiles formeront le genre *Zuberella* nv. gen., en hommage à Zuber qui, avec Veillon, a décrit l'espèce type [6].

Voici la clef de détermination de ces cinq genres :

1. Bâtonnets asporulés simples, aciliés, immobiles, droits ou légèrement infléchis, Gram-négatifs, non encapsulés : *Ristella* nv. gen.

2. Bâtonnets ovoïdes, immobiles, aciliés, non encapsulés, Gram-négatifs, à coloration bipolaire, à formes involutives très variées : *Pasteurella* Trevisan.

3. Formes très petites, à la limite de la visibilité, traversant les bougies filtrantes, Gram-négatives : *Dialister* Berger et al.

4. Bâtonnets présentant les mêmes caractères que *Ristella* mais encapsulées : *Capsularis* nv. gen.

5. Bâtonnets présentant les mêmes caractères que *Ristella* mais mobiles et ciliés : *Zuberella* nv. gen.

Voici maintenant la clef des espèces groupées dans chacun de ces genres :

#### Premier Genre : *Ristella* nov. gen.

##### A. *Formes courtes et moyennes prédominantes.*

###### a) *Espèces gazeuses.*

1. Colonies lenticulaires ; non protéolytique, glucidolytique, culture fragile (meurt en huit à dix jours) pathogène : *R. fragilis* (Veillon et Zuber) nv. comb. (primitivement *Bacillus*, puis *Bacteroides*, C. et C. et *Fusiformis* T. et W.)

2. Colonies noires. Hémoglobino-phile, cultures fétides, légèrement protéolytique, glucidolytique, indologène, pathogène : *R. melanogénica* (Oliver et Wherry) nv. comb. (primitivement *Bacterium*, puis *Hemophilus* Bergey et al.).

remarquer que si la bactériologie se privait de cette ressource, elle serait la seule science à le faire. Les mathématiciens emploient les termes : euclidienne, riemannienne ; les physiciens : ampère, volt, galvanisation, etc. ; les minéralogistes : hauyite, garnièrite, etc. ; les chimistes : troostite, osmondite, martensite, etc. ; les botanistes : *Laboulbenia*, *Harveyella*, *Holmsella*, *Bonnemaisonia*, *Sabourautides*, etc. ; les paléontologistes : *Zoelleria*, etc. ; les géographes : Brazzaville, Léopoldville, Louisville, etc. ; les historiens : napoléonienne, etc. ; les médecins : césarienne, d'arsonvallisation ; les architectes : mansarde ; les ingénieurs : quinquet, poubelle, etc. Nous sommes persuadé que le professeur Orla-Jensen n'hésite pas à se servir des termes pasteurisation, tyndallisation. Par conséquent, il n'y a vraiment aucune raison à pousser l'ostracisme aux seuls noms de Bactéries.

3. Colonies lenticulaires entourées d'un halo, sérophile, cultures fragiles, fétides ( $H_2S$ ). Indologène, non protéolytique, pathogène : *R. halo-septica* (Wyss) nv. comb. (primitivement *Bacterium*).
4. Colonies arborescentes, culture fétide ( $H_2S$ ), indologène, protéolytique, non glucidolytique, toxique : *R. putredinis* (Heyde) nv. comb. (primitivement *Bacillus*).
5. Colonies irrégulières arrondies, non protéolytique, glucidolytique, pathogène : *R. terebrans* (Brocard et Pham.) nv. comb. (primitivement *Bacillus*).
6. Bâtonnet fourchu, colonies lenticulaires, petites ; non protéolytique, glucidolytique, pathogène : *R. furcosa* (Veillon et Zuber) nv. comb. (primitivement *Bacillus*, puis *Bacteroides* Hauduroy et al. et *Fusiformis*, T. et W.).
7. Colonies lenticulaires ; protéolytique ; lipidolytique ; non glucidolytique, fétide ( $H_2S$ ), non pathogène : *R. putida* (Tissier et Martelly) nv. comb. (primitivement *Bacillus*).
8. Bâtonnet effilé, colonies lenticulaires, non protéolytique, non fétide, non pathogène : *R. clostridiiformis* (Burry et Ankersmit) nv. comb. (primitivement *Bacterium*).
9. Colonies lenticulaires, non protéolytique, glucidolytique, non pathogène : *R. perforans* (Tissier) nv. comb. (primitivement *Coccobacillus* ; puis *Bacterium* (Le Blaye et Guggenheim) puis *Bacteroides* (Hauduroy et al.).
10. Thermophile, colonies punctiformes, lait coagulé, glucidolytique, protéolytique, non pathogène : *R. thermophila*  $\beta$  (R. Veillon) nv. dnm. (primitivement *Bacillus*).
11. Thermophile, colonies punctiformes, protéolytique, glucidolytique, pathogène : *R. thermophila*  $\gamma$  (R. Veillon) nv. dnm. (primitivement *Bacillus*).
12. Non fétide, gélatine liquéfiée, lait non coagulé, glucidolytique, pas d'indol ;  $H_2S$  : *R. incommunis* (E. et G.) nv. comb. (primitivement *Bacteroides*).
13. Non fétide, gélatine non liquéfiée, lait coagulé, indol ;  $H_2S$  ; glucidolytique ; *R. insolita* (E. et G.) nv. comb. (primitivement *Bacteroides*).
- aa) *Espèces non gazeuses* :
14. Bâtonnet effilé ; non protéolytique, glucidolytique, non pathogène : *Ristella naviformis* (Jungano) nv. comb. (primitivement *Bacillus*).
15. Sérophile obligé, isolé du lichen plan : *R. lichenis-planii* (Jacob et Helmbold) nv. dnm. (jusqu'ici non dénommé, ni classé).
16. Colonies muqueuses, hémophile, pathogène : *R. destillationis* (Tunnichliff) nv. comb. (jusqu'ici non classé).
17. Colonies punctiformes, pas d'indol, gélatine liquéfiée, lait coagulé, glucidolytique ;  $H_2S$  : *R. uniformis* (E. et G.) nv. comb. (primitivement *Bacteroides*).
18. Colonies punctiformes, pas d'indol, gélatine liquéfiée, lait coagulé ; glucidolytique ;  $H_2S$  : *R. distasonis* (E. et G.) nv. comb. (primitivement *Bacteroides*).
19. Colonies punctiformes, gélatine liquéfiée, lait non modifié, glucidolytique, pas d' $H_2S$ , pas d'indol : *R. uncata* (E. et G.) nv. comb. (primitivement *Bacteroides*).
20. Bouillon trouble ; gélatine liquéfiée, lait non coagulé, glucido-

lytique,  $H_2S$ , pas d'indol : *R. tumida* (E. et G.) nv. comb. (primitivement *Bacteroides*).

21. Colonies punctiformes, bouillon troublé, gélatine liquéfiée, lait coagulé, glucidolytique, pas d'indol, pas d' $H_2S$  : *R. exigua* (E. et G.) nv. comb. (primitivement *Bacteroides*).

B. *Formes longues, filamenteuses prédominantes.*

b) *gazeuses* :

22. Colonies lenticulaires ; odeur fécaloïde ;  $H_2S$ , non protéolytique ; glucidolytique, pathogène : *R. trichoïdes* (Potez et Compagnon) nv. comb. (primitivement *Bacillus*, puis *Bacteroides* Hauduroy et al.).

b) *non gazeuses* :

23. Colonies lenticulaires épaisses, cohérentes : *R. glutinosa* (Guillemot et Hallé) nv. comb. (primitivement *Bacillus*, puis *Bacteroides* Hauduroy et al.).

24. Colonies fines, granuleuses, non cohérentes, gélatine non liquéfiée, lait non coagulé, non protéolytique, légèrement glucidolytique, non pathogène : *R. capillosa* (Tissier) nv. comb. (primitivement *Bacillus*).

25. Colonies petites, rondes, non granuleuses, gélatine non liquéfiée, non protéolytique, glucidolytique, non pathogène : *R. cylindroides* (Rocchi) nv. comb. (primitivement *Bacterium*).

### Deuxième Genre : *Pasteurella* (Trevisan)

Parmi les espèces décrites par Eggerth et Gagnon [7] comme *Bacteroides*, il en est quatre qui répondent à la définition du genre *Pasteurella*. En voici la clef :

1. Pas de gaz, gélatine liquéfiée, lait coagulé, glucidolytique,  $H_2S$  : *P. vulgata* (E. et G.) nv. comb.

2. Gaz, gélatine liquéfiée, lait coagulé, glucidolytique, indol,  $H_2S$  : *P. ovata* (E. et G.) nv. comb.

3. Gaz, pas d'indol, gélatine liquéfiée, lait coagulé, glucidolytique,  $H_2S$  : *P. convexa* (E. et G.) nv. comb.

4. Gaz, indol, gélatine liquéfiée, lait coagulé, puis digéré, non glucidolytique : *P. coagulans* (E. et G.) nv. comb.

### Troisième Genre : *Dialister* Bergey 1923.

Ce genre n'a actuellement que deux espèces :

1. Anaérobie strict, sérophile obligé, colonies lenticulaires, pas de gaz, légèrement glucidolytique, pathogène : *D. pneumosintes* (Olitsky et Gates) Bergey (primitivement *Bacterium*).

2. Microaérophile. Colonies punctiformes, pas de gaz, glucidolytique, pathogène, culture granulaire : *D. granuliformans* (Pavlovic) Bergey et al. (primitivement *Bacterium*).

### Quatrième Genre : *Capsularis* nv. gen.

Ce genre renferme actuellement trois espèces :

1. Bâtonnet long et élancé, sérophile, zooglées visqueuses en bouillon, gaz, glucidolytique : *C. Zoogoleiformans* (Prausnitz) nv. comb. (primitivement *Bacillus*, puis *Bacterium*, puis *Bacteroides* Hauduroy) (5).

2. Bâtonnet court, polymorphe, microaérophile, sérophile, non gazeux, fétide, indologène, pathogène : *Caps. mucosus* (Klinger) nv. comb. primitivement *Coccobacterium*, puis *Bacterium*, puis *Bacteroides*, [Hauduroy] (6).

3. Bâtonnet polymorphe, non sérophile, glucidolytique, non protéolytique, indologène, non pathogène : *Caps. variabilis* (Distaso) nv. comb. (primitivement *Bacillus*, puis *Bacteroides* C. et C.).

### Cinquième Genre : *Zuberella* nv. gen.

Ce genre comprend actuellement six espèces :

1. Bâtonnet épais, liquéfiant la gélatine, coagulant le lait, glucidolytique : *Z. serpens* (Veillon et Zuber) nv. comb. (primitivement *Bacillus*, puis *Bacteroides* (Hauduroy et al.), et *Fusiformis* (T. et W.).

2. Bâtonnet court, effilé aux extrémités, ne liquéfiant pas la gélatine, ne coagulant pas le lait, saponifiant les graisses, pas d'indol, gazeux : *Z. praeacuta* (Tissier) nv. comb. (primitivement *Coccobacillus*).

3. Bâtonnet de taille moyenne, effilé aux extrémités, ne liquéfiant pas la gélatine, ne coagulant pas le lait, glucidolytique, gazeux : *Z. clostridiiformis mobilis* (Choukevitch) nv. comb. (primitivement *Bacterium*).

4. Bâtonnet long, 6 à 8 cils péritriches, ne liquéfiant pas la gélatine, ne coagulant pas le lait, glucidolytique, gazeux : *Z. aquatilis* (Spray et Laux) nv. dnm. (Non dénommé ni classé jusqu'ici).

5. Bâtonnet très polymorphe, non gazeux, non sérophile, coagulant le lait, glucidolytique, indologène : *Z. variegata* (Distaso) nv. comb. primitivement *Bacillus*, puis *Bacteroides* C. et C.).

6. Bâtonnet fin et long, sérophile, non gazeux : *Z. rhinitis* (Tunnicliff) nv. comb. (primitivement *Bacillus*).

(5) Le nom spécifique original était *mucosus anaerobius* et le même nom ayant été donné dix ans auparavant par Klinger à une espèce du même genre, force nous est de le changer pour homonymie, la priorité jouant en faveur de Klinger. Hauduroy et al. avaient proposé *Prausnitzii*. Nous-même avons proposé *zoogoleiformans*. Hauduroy et al. ayant publié en même temps que nous, il n'y a pas de priorité entre nous.

(6) Nous ne conservons pas la désignation *viscosus*, proposée par Hauduroy et al. pour la raison que le genre *Capsularis* ne renferme pas d'autre espèce dont le nom spécifique soit *mucosus*.

## II. BACTERIACEÆ (Cohn) emend. (Bactériales Gram-positives).

Les espèces qui composent cette famille sont nombreuses et diverses. Elles ne rentrent pas toutes dans les genres connus, et force nous a été de créer de nouveaux genres pour les grouper.

Voici la définition et la clef de ces genres :

### A. Espèces immobiles, aciliées.

*Premier genre* : Bâtonnets asporulés droits ou infléchis, immobiles, aciliés, non encapsulés, Gram-positifs, habituellement isolés ou en paires ou en très courtes chaînettes et ne présentant jamais de pseudo-ramifications : *Eubacterium* nv. gen.

*Deuxième genre* : Bâtonnets droits ou infléchis, asporulés, immobiles, aciliés, non encapsulés, Gram-positifs, non ramifiés, et se présentant habituellement en longues chaînes ou filaments : *Catenabacterium* nov. gen.

*Troisième genre* : Bâtonnet droit ou infléchi, asporulé, immobile, acilié, non encapsulé, Gram-positif, présentant des pseudo-ramifications : *Ramibacterium* nov. gen.

### B. Espèces mobiles, ciliées.

*Quatrième genre* : Bâtonnets droits ou infléchis, asporulés, Gram-positifs, non encapsulés, mobiles, ciliés : *Cillobacterium* nov. gen.

Voici maintenant la clef des espèces groupées dans chacun de ces genres :

### Premier Genre : *Eubacterium* nv. gen.

#### A. Espèces gazeuses :

##### a) Fétides.

1. Non protéolytique, ne liquéfiant pas la gélatine, ne coagulant pas le lait, non pathogène : *E. foedans* (Klein) nv. comb. (primitivement *Bacillus*).

2. Non protéolytique, ne liquéfiant pas la gélatine, coagulant le lait, pathogène : *E. niosii* (Niosi) nv. comb. (primitivement non classé ni nommé, puis classé à *Bacteroides* [Hauduroy et al.] qui l'ont nommé).

3. Non protéolytique, glucidolytique, coagulant le lait, hémolytique, non pathogène : *E. rectale* (Grooten) nv. comb. (primitivement non classé, puis *Bacteroides* [Hauduroy et al.]).

4. Non protéolytique, glucidolytique, hémolytique, pathogène : *E. obsti* (Obst) nv. dnm. (jusqu'ici ni classé ni nommé).

5. Protéolytique (gélatine et lait digéré), pathogène : *E. quantum*

(*Rodella*) nv. dnm. (jusqu'ici non classé et non nommé ; étant connu sous le nom de *Rodella* IV, nous lui donnons le nom de *quartum*).

aa) *Non fétides* :

6. Non protéolytique, glucidolytique, coagulant le lait, produisant beaucoup d'alcool éthylique, pathogène : *E. ethylicum* (Achalme et Rosenthal) nv. comb. (primitivement *Bacillus*).

7. Non protéolytique, glucidolytique, non pathogène, produisant beaucoup d'acide butyrique : *E. cadaveris* (Buday) nv. comb. (primitivement *Bacillus* ; identifié à tort par quelques auteurs à l'espèce *perfringens*, mais il n'est pas sporulé).

8. Non protéolytique, glucidolytique, non pathogène : *E. tortuosum* (Dehono) nv. comb. (primitivement *Bacillus*, puis *Bacteroides*, Bergey et al.).

9. Non protéolytique, glucidolytique, ne coagulant pas le lait, légèrement pathogène : *E. aerofaciens* (Eggerth) nv. comb. (primitivement *Bacteroides*).

10. Non protéolytique, glucidolytique, coagulant le lait, légèrement pathogène : *E. biforme* (Eggerth) nv. comb. (primitivement *Bacteroides*).

11. Non protéolytique, glucidolytique, liquéfiant la gélatine, non pathogène : *E. limosum* (Eggerth) nv. comb. (primitivement *Bacteroides*).

B. *Espèces non gazeuses, non protéolytiques* :

12. Coagulant le lait, pathogène : *E. disciformans* (Massini) nv. comb. (primitivement *Bacillus*).

13. Toxique, pathogène : *E. poeciloides* (Roger et Garnier) nv. comb. (primitivement *Bacillus*, puis *Bacteroides*, Hauduroy).

14. Sérophile, glucidolytique, pathogène : *E. typhi exanthematici* (Plotz) nv. comb. (primitivement *Bacillus*).

15. Sérophile, microaérophile, pathogène : *E. pyogenes bovis* (Roux) nv. comb. (primitivement *Bacillus*).

16. Glucidolytique, non pathogène : *E. ventriosum* (Tissier) nv. comb. (primitivement *Bacillus*).

17. Non glucidolytique, pathogène : *E. minutum* (Tissier) nv. comb. (primitivement *Bacillus*, puis *Bacteroides*, Hauduroy).

18. Coagulant le lait, non pathogène : *E. parvum* (Choukevitch) nv. comb. (primitivement *Bacillus*).

19. Non glucidolytique, non pathogène : *E. lentum* (Eggerth) nv. comb. (primitivement *Bacteroides*).

## Deuxième Genre : *Catenabacterium* nv. gen.

Nous groupons dans ce genre les espèces suivantes :

A) *Espèce gazeuse* :

1. Grandes colonies arborescentes, non protéolytique, glucidolytique, odeur rance, pyogène : *C. helminthoides* (Lewkowicz) nv. comb. (primitivement *Bacillus*).

B) *Espèces non gazeuses* :

2. Colonies lenticulaires blanches, peptolytique, glucidolytique, non pathogène : *C. filamentosum* (Jungano) nv. dnm. (jusqu'ici ni nommé, ni classé).

3. Colonies lenticulaires blanches, peptolytique, gélatinolytique, coagulant le lait, glucidolytique, indologène, pathogène : *C. lottii* (Lotti) nv. dnm. (jusqu'ici ni nommé, ni classé).

4. Colonies irrégulières, formant des zoogléas visqueuses en bouillon, non protéolytique, glucidolytique, non pathogène : *C. cateniforme* (Eggerth) nv. comb. (primitivement *Bacteroides*).

5. Colonies lenticulaires, noires, à odeur fétide, peptolytique, glucidolytique, pathogène : *C. nigrum* (Repaci) nv. comb. (primitivement *Streptobacillus*).

6. Colonies arborescentes, hémophile, glucidolytique, non pathogène : *C. leptothricoides* (Jay) nv. dnm. (jusqu'ici non nommé et classé par Jay parmi les *Leptothrix*, ce qui constitue une erreur de genre).

### Troisième Genre : *Ramibacterium* nv. gen.

Nous groupons dans ce genre les espèces suivantes :

#### A. Non indologènes :

1. Colonies lenticulaires, cultures gazeuses, lait coagulé, glucidolytique, non hémolytique, pathogène : *R. ramosum* (Veillon et Zuber) nv. comb. (primitivement *Bacillus*, puis *Bacteroides* (Hauduroy) et *Fusiformis* T. et W.).

2. Non gazeux, ne coagulant pas le lait, pathogène : variété  $\beta$  de Lotti.

3. Non gazeux, colonies irrégulières, ne coagulant pas le lait, pathogène : variété  $\gamma$  de Lotti.

#### B. Espèces indologènes :

4. Très polymorphe, colonies lenticulaires, gaz, zoogléas visqueuses, lait coagulé, glucidolytique, hémolytique, fétide, pathogène : *R. ramosoides* (Runeberg) nv. comb. (primitivement *Bacillus*).

5. Petit, mince, flexueux, à bouts effilés, colonies rondes, lait lentement coagulé, glucidolytique, formant  $H_2S$ , non pathogène : *R. pseudoramosum* (Distaso) nv. comb. (primitivement *Bacillus*, puis *Bacteroides*).

### Quatrième Genre : *Cillobacterium*.

Ce genre groupe actuellement cinq espèces mobiles :

#### A. Espèce non protéolytique :

1. Colonies lenticulaires, cultures gazeuses avec zoogléas visqueuses, gélatine non liquéfiée, lait non coagulé, glucidolytique, non indologène, pathogène : *C. moniliforme* (Repaci) nv. comb. (primitivement *Bacillus*).

#### B. Espèces gélatinolytiques :

2. Colonies lenticulaires, gazeux, gélatine liquéfiée, lait non coagulé, glucidolytique, pathogène : *C. endocarditis* (Routier et Braunberger) nv. dnm. (jusqu'ici ni nommé, ni classé).

3. Colonies muriformes avec satellites, gazeux, liquéfiant la gélatine, lait non coagulé, indologène,  $H_2S$ , alcool éthylique, acides butyrique

et lactique, pathogène : *C. meningitis* (Ghon, Mucha, Muller) nv. dnm. (jusqu'ici ni nommé, ni classé).

*C. Espèces protéolytiques :*

4. Bâtonnets en spatule, colonies rondes, gazeux, gélatine liquéfiée, lait coagulé et digéré, glucidolytique, indologène : *C. spatuliforme* (Distaso) nv. comb. (primitivement *Bacillus*).

5. Bâtonnet trapu, colonies lenticulaires, gazeux, lait coagulé et digéré, gélatine liquéfiée, blanc d'œuf digéré, glucidolytique, indologène : *C. multiforme* (Distaso) nv. comb. (primitivement *Bacillus*).

## B. — Actinomycétales.

Nous avons vu que les espèces anaérobies appartenant à cet ordre se répartissent dans deux familles dont l'une, nouvelle, groupe les formes Gram-négatives : Sphérophoracées ; et l'autre, ancienne, les formes Gram-positives : Actinomycétacées.

### I. SPHEROPHORACEÆ NV. FAM.

Parmi les espèces composant cette famille, il en est qui appartiennent à un genre connu : *Fusiformis* Hoelling 1910 (7). Les autres ne rentrant dans aucun genre défini, nous avons créé pour elles quatre genres nouveaux. Voici la définition et la clef de ces genres :

1. Bâtonnet droit ou incurvé, très polymorphe ; se présentant en général dans les exsudats sous la forme d'un ovoïde à coloration bipolaire, et dans les cultures sous des formes très variées, filamenteuses, renflées, en saucisses, avec présence constante de sphéroïdes de grande taille, chromaffines, libres ou accolés aux formes allongées ; métachromasies fréquentes dans les formes allongées. Immobile, acilié, asporulé, Gram-négatif : *Spherophorus* nv. gen.

2. Bâtonnets présentant les mêmes caractères que le précédent, mais mobile et cilié : *Spherocillus* nv. gen.

3. Bâtonnets effilés aux deux extrémités, ayant la forme d'un fuseau très allongé, immobile, acilié, asporulé, Gram-négatif, présentant dans les cultures des sphéroïdes de petite taille, chro-

(7) C'est par raison de priorité que nous adoptons ce terme, antérieur à son synonyme *Fusobacterium* L. et N. et employé par le Comité des Bactériologistes américains, par Bergey et al., par Hauduroy et al., par Topley et Wilson, etc.

maffines, et des granulations métachromatiques : *Fusiformis* Hoelling 1910.

4. Bâtonnet présentant les mêmes caractères que le précédent mais mobile et cilié : *Fusocillus* nv. gen.

5. Bâtonnets très longs, filamenteux, à extrémités arrondies ou effilées, non ramifié, immobile, acilié, asporulé, cytoplasme finement vacuolisé, renflements ovoïdes et sphériques ou fusiformes se colorant en violet par l'iode, granulations métachromatiques, Gram-négatif : *Pseudoleptothrix* nv. gen.

Voici maintenant la clef de détermination des espèces groupées dans ces cinq genres :

### Premier Genre : *Spherophorus* nv. gen.

#### A. ESPÈCES GAZEUSES :

##### a) *Non sérophiles obligées* ;

##### aa) *Hémolytiques* ;

1. Colonies lenticulaires, bouillon troublé, odeur putride, gélatine non liquéfiée, lait coagulé, non protéolytique, glucidolytique, indologène, peu ou pas d'H<sub>2</sub>S ; pathogène, agent de la nécrose musculo-tendineuse des mammifères ; toxine soluble, antitoxine spécifique : *S. necrophorus* (Schmorl) nv. comb. (primitivement *Bacillus*, puis *Actinomyces*, *Streptothrix*, *Corynebacterium*, *Fusiformis*, *Oospora*, *Cladothrix* et *Bacterium*).

2. Colonies lenticulaires, flocons ne troublant pas le bouillon, odeur assez fétide, gélatine non liquéfiée, lait lentement coagulé, non protéolytique, glucidolytique, peu ou pas d'H<sub>2</sub>S, indologène, pathogène (agent de la nécrose viscérale humaine) : *S. funduliformis* (Hallé) nv. comb. (primitivement *Bacillus*, puis *Bacteroides* Bergey).

##### aaa) *Non hémolytiques* :

3. Colonies punctiformes, gélatine non liquéfiée, lait non coagulé, pathogène (agent de la nécrose aviaire) : *S. necrogenes* (Kawamura) nv. comb. (primitivement *Bacillus*).

4. Sphéroïdes apparaissant tardivement, colonies lenticulaires, zooglées visqueuses en bouillon glucosé, qui est troublé, odeur fétide, pas d'indol, gélatine non liquéfiée, lait non coagulé, non protéolytique, glucidolytique, légèrement pathogène : *S. necroticus* (Nativelle) nv. comb. (primitivement *Bacillus*).

5. Sphéroïdes tardifs, H<sub>2</sub>S abondant, liquide d'hydrocèle lentement digéré, indologène, acide lactique et alcool éthylique formés, non pathogène pour les animaux de laboratoire : *S. peritonitis* (Ghon et Sachs) nv. dnm. (jusqu'ici ni nommé, ni classé).

6. Colonies punctiformes, trouble le bouillon, gélatine liquéfiée, lait coagulé, glucidolytique, indologène, H<sub>2</sub>S, non pathogène : *S. gulosus* (Eggerth et Gagnon) nv. comb. (primitivement *Bacteroides*).

7. Colonies punctiformes, trouble le bouillon, gélatine non liquéfiée, lait non coagulé, indol, H<sub>2</sub>S, non pathogène, glucidolytique : *S. inæqualis* (E. et G., nv. comb. (primitivement *Bacteroides*).

8. Colonies lenticulaires, trouble le bouillon, gélatine non liquéfiée, lait non modifié, glucidolytique, indol,  $H_2S$ , non pathogène : *S. varius* (E. et G.) nv. comb. (primitivement *Bacteroides*).

9. Ne trouble pas le bouillon, pas d'indol, gélatine non liquéfiée, lait non modifié, glucidolytique,  $H_2S$  : *S. siccus* (E. et G.) nv. comb.

b) *Sérophiles obligées* :

10. Colonies lenticulaires ou irrégulières, parfois entourées d'un essaim de petites colonies, odeur fécaloïde, trouble uniforme en bouillon avec dépôt visqueux, traces d'indol,  $H_2S$ , gélatine non liquéfiée, lait non coagulé mais digéré, pathogène (lésions visqueuses), pas de toxine, brunissement de l'hémoglobine : *S. mortiferus* (Harris) nv. comb. (primitivement *Bacillus*).

11. Colonies lenticulaires, cultures en flocons, odeur fétide, gélatine non liquéfiée, protéines non attaquées, lait coagulé, glucidolytique, indol,  $H_2S$ , alcool éthylique, acide butyrique, pathogène : *S. freundi* (Freund) nv. comb. (primitivement *Bacterium*, puis *Bacteroides* Hauduroy).

12. Colonies punctiformes, cultures en flocons ne troublant pas le bouillon ; non fétide, non hémolytique, pas d' $H_2S$ , pathogène : *S. pyogenes* (Buday) nv. comb. (primitivement *Bacillus*, puis *Bacteroides* Hauduroy et al.).

13. Colonies lenticulaires, culture en flocons, gélatine non liquéfiée, lait non coagulé, protéines non attaquées, non glucidolytique, pathogène : *S. gonidiaformans* (Tunncliffe et Jackson) nv. comb. (primitivement *Bacillus*, puis *Actinomyces* [Bergey], puis *Bacteroides* Hauduroy et al.).

B. *Espèces non gazeuses* :

bb) *Non sérophiles obligées* ;

14. Colonies nuageuses, cultures grumeleuses en bouillon, qui n'est pas troublé, odeur fétide, gélatine non liquéfiée, lait non coagulé, non protéolytique, non glucidolytique, hémolytique, pathogène : *S. floccosus* (Courmont et Cade) nv. comb. (primitivement *Streptobacillus*, puis *Bacteroides* Hauduroy et al.).

15. Colonies lenticulaires entourées de petites colonies satellites, trouble le bouillon, pas d' $H_2S$ , lait lentement coagulé, gélatine non liquéfiée, protéines non attaquées, peu ou pas d'indol, alcool éthylique, acides butyrique et lactique, pathogène : *S. influenzaeformis* (Russ) nv. comb. (primitivement *Bacillus*, puis *Bacteroides* Hauduroy et al.).

bbb) *Sérophile obligée* :

16. Colonies lenticulaires, ne trouble pas le bouillon, croissance en grumeaux, non fétide, pas d'indol, pas d' $H_2S$ , gélatine non liquéfiée, lait non coagulé, protéines non attaquées, non glucidolytique, pathogène (adénite cervicale purulente nécrosante du cobaye) : *S. caviae* (Vincent) nv. comb. (primitivement *Streptobacillus*, puis *Bacteroides* (Hauduroy et al.).

Deuxième Genre : *Spheroecillus* nv. gen.

Ce genre renferme les espèces suivantes :

1. Colonies rondes, culture floconneuse en bouillon, ne troublant pas le milieu, gaz, pas d'indol, gélatine non liquéfiée, lait non coagulé, non protéolytique, glucose seul fermenté : *Sph. bullosus* (Distaso) nv. comb. (primitivement *Bacillus*, puis *Bacterium*, puis *Bacteroides* C. et C.).
2. Colonies rondes, bouillon troublé, gaz, indol,  $H_2S$ , gélatine non liquéfiée, lait coagulé, non protéolytique, glucidolytique, non pathogène : *Sph. thetaiotaomicron* (Distaso) nv. comb. (primitivement *Bacillus*, puis *Bacteroides* C. et C.).
3. Colonies lenticulaires, hémophile, gazeux, fétide, gélatine liquéfiée, hémolytique, pathogène : *Sph. wirthi* (Wirth) nv. dnm. (jusqu'ici ni nommé, ni classé).

Troisième Genre : *Fusiformis* Hoelling 1910.

On a décrit plusieurs espèces anaérobies de ce genre. Malheureusement, la plupart de ces descriptions sont insuffisantes, et nous ne pouvons en retenir que trois :

1. Sérophile obligé, colonies lenticulaires bourgeonnantes ou ramifiées, bouillon au sérum troublé, gaz, odeur fétide, non protéolytique, glucidolytique, indol,  $H_2S$ , pathogène : *F. fusiformis* (Vincent) Topley et Wilson (primitivement *Bacillus*, puis *Fusobacterium*).
2. Non sérophile obligé. Colonies lenticulaires, bouillon troublé, gaz, non fétide, non protéolytique, glucidolytique, lait coagulé, pas d'indol, peu d' $H_2S$ , pathogène : *F. biacutus* (W. et P.) nv. comb. (primitivement *Fusobacterium*).
3. Non sérophile, colonies punctiformes, bouillon troublé, pas de gaz, non protéolytique, gélatine liquéfiée, glucidolytique, lait non coagulé, pas d'indol, pas d' $H_2S$ , non pathogène : *F. vescus* (E. et G.) nv. comb. (primitivement *Bacteroides*).

Quatrième Genre : *Fusocillus* nv. gen.

1. Bâtonnet grêle et élancé, faiblement mobile, difficile à cultiver, sérophile obligé, colonies floconneuses, pas de gaz, non pathogène : *Fusocillus shmamini* (Shmamin) nv. dnm. (jusqu'ici ni nommé ni classé).
2. Bâtonnet de grande taille très mobile, cilié, sérophile obligé, colonies punctiformes ou lenticulaires bourgeonnantes, gélatine non liquéfiée, pas d' $H_2S$ , bouillon troublé, pas d'odeur fétide, pas de gaz, non pathogène : *Fusocillus plauti* (Plaut) nv. dnm. (primitivement *Fusiformis*).

# Cinquième Genre : *Pseudoleptothrix* nv. gen.

1. Sérophile, microaérophile, colonies irrégulières ramifiées, gaz, cultures floconneuses en bouillon, gélatine non liquéfiée, lait non coagulé, glucidolytique : *Ps. innominata* (Miller) nv. comb. (primitivement *Leptothrix*).

2. Non sérophile, anaérobie strict, colonies rondes floconneuses, bouillon troublé, pas de gaz, lait non coagulé, pathogène : *Ps. tenuis* (Lewkowicz) nv. comb. (primitivement *Leptothrix*).

## II. ACTINOMYCETACEÆ.

Cette famille se distingue de la première non seulement en ce que ses formes sont Gram-positives, mais encore parce qu'elles ne présentent pas de sphéroïdes libres, l'équivalent de ceux-ci étant les renflements en massue. Ses espèces ont été jusqu'ici classées dans les genres *Bacillus*, *Bacterium*, *Bacteroides*, *Bifidibacterium*, *Streptothrix*, *Cohnistreptothrix* (et synonymes), *Corynebacterium*, etc. Nous faisons entrer dans cette famille les genres *Actinobacterium* Haass 1906, *Bifidibacterium* Orla-Jensen 1924 et *Corynebacterium* Lehman et Neumann 1896. Ces trois genres sont d'ailleurs très voisins l'un de l'autre et notre conception des *Actinomycetaceæ* diffère par cela même de celle de Buchanan, Bergey et al., Hauburoy et al. qui ont placé le genre *Corynebacterium* parmi les *Mycobacteriaceæ*.

Voici la clef de ces trois genres :

1. Bâtonnets asporulés, immobiles, aciliés, Gram-positifs, filamenteux, présentant en culture des ramifications et des renflements en massue, et dans les produits pathologiques des amas rayonnés de formes ramifiées ; espèces anaérobies ou microaérophiles ; pathogènes : *Actinobacterium* Haass 1906.

2. Bâtonnets asporulés, immobiles, aciliés, Gram-positifs, dont les extrémités sont bifides ou doublement bifides, renflements en massue. Espèces anaérobies ou microaérophiles peu ou pas pathogènes : *Bifidibacterium* Orla-Jensen 1924 emend.

3. Bâtonnets asporulés, immobiles, aciliés, Gram-positifs, présentant des ramifications, des renflements et des granulations métachromatiques. Espèces aérobies et anaérobies : *Corynebacterium* Lehmann et Neumann 1896.

Premier Genre : *Actinobacterium* Haass 1906.  
(Synonyme : *Cohnistreptothrix* Pinoy 1913).

Ce genre et les espèces qu'il renferme ont été le sujet de confusions fréquentes, et d'erreurs persistantes. Il y a d'abord une question de priorité de nomenclature. Elle vient d'être réglée par Puntoni et Leonardi (1936) [9] et Puntoni (1937) [10]. Quelques auteurs emploient encore comme terme générique *Cohnistreptothrix*. Or, le terme générique *Actinobacterium* a été créé et bien défini par Haass en 1906, et utilisé par Sam Pietro pour caractériser l'espèce-type *A. israeli*. D'après le Code international de Nomenclature c'est donc bien *Actinobacterium* qui doit être utilisé désormais.

Il y a ensuite une question de systématique pure : on classe encore aujourd'hui *A. israeli* et les espèces voisines soit dans le genre *Actinomyces*, soit dans le genre *Streptothrix*, soit dans le genre *Corynebacterium*. Or, Joannidès (1937) [42] a démontré l'individualité très marquée d'*A. israeli* et conclut que le rattachement de cette espèce au genre *Actinobacterium* était actuellement la seule solution possible à ce problème de systématique. Nous nous rallions à ses conclusions.

Par contre, nous nous opposons formellement aux toutes dernières conclusions de Puntoni [41] qui identifie *A. israeli* avec *B. bifidum*. Tout en admettant avec ce savant la parenté familiale des espèces *israeli* et *bifidum* (analogies morphologiques et structurales) nous nous refusons à admettre l'identité. D'abord *B. bifidum* ne présente pas de ramifications du corps bacillaire ; il ne présente que les extrémités bifides ou doublement bifides. Les deux espèces appartiennent donc à deux genres différents. 2° Les caractères physiologiques sont nettement différents comme l'indique ce tableau :

	LAIT	GLUCIDES	POUVOIR PATHOGÈNE
<i>A. israeli</i> . .	Non coagulé.	A peine fermentés.	Hémolytique et pathogène : actinomyose expérimentale.
<i>B. bifidum</i> . .	Coagulé.	Fermentation acide énergique.	Totalement absent.

Il s'agit donc bien de deux espèces bactériennes distinctes et appartenant à des genres différents.

Voici la clef des espèces du genre *Actinobacterium* :

1. Colonies lenticulaires, pas de gaz, culture grumeleuse en bouillon, gélatine non liquéfiée, lait non coagulé, non protéolytique, faiblement glucidolytique, hémolytique, pathogène (actinomycoses anaérobies) : *A. israeli* (Wolff et Israël) Sanpietro (primitivement *Streptothrix*, puis *Actinomyces*, *Brevistreplothrix*, *Proactinomyces*, *Cohnistreplothrix*).
2. Sérophile obligé, colonies rondes, pas de gaz, bouillon ascite troublé, pathogène pour l'homme : *A. meyeri* (K. Meyer) nv. dnm. (jusqu'ici non nommé, classé parmi les *Streptothrix*).
3. Colonies irrégulières, cultures grumeleuses en bouillon, gélatine non liquéfiée, non protéolytique, légèrement pathogène : *A. abscessus* (Naschez.) nv. dnm. (jusqu'ici non nommé, classé parmi les *Streptothrix*).

## Deuxième Genre : *Bifidibacterium* Orla-Jensen 1924.

### A. Espèces non gazeuses :

1. Colonies lenticulaires, zooglées muqueuses en bouillon glucosé, gélatine non liquéfiée, lait coagulé (acide lactique + acide acétique) pas de gaz, non protéolytique, glucidolytique (surtout lactose), uréolytique. Pas d'indol, non pathogène. Tendance à l'aérobisation : *Bif. bifidum* (Tissier) Orla-Jensen (primitivement *Bacillus*, puis *Bacterium*, puis *Bacteroides* Bergey).
2. Bâtonnet de grande taille, colonies lenticulaires, entourées d'une nébuleuse, zooglées visqueuses en bouillon mannité. Pas d'indol, gélatine non liquéfiée, lait lentement coagulé, glucidolytique (acide acétique), légèrement pathogène : *Bif. appendicitis* (Lotti) nv. dnm. (jusqu'ici ni nommé ni classé).
3. Bâtonnet très polymorphe, colonies lenticulaires entourées d'une constellation de petites colonies. Microaérophile, gélatine non liquéfiée, lait non coagulé, glucidolytique (sauf lactose) non pathogène : *Bif. constellatum* (White) nv. comb. (primitivement *Bacillus*).
4. Bâtonnet polymorphe, de petite taille, microaérophile, colonies lenticulaires, lait non coagulé : *Bif. intestinalis* (Jacobson) nv. comb. (primitivement *Bacillus*).
5. Bâtonnet très petit, irrégulier, gélatine non liquéfiée, lait non coagulé, glucidolytique : *Bif. cornutum* (Distaso) nv. comb. (primitivement *Bacillus*, puis *Bacteroides* Hauduroy et al.).

### B. Espèces gazeuses :

6. Gros bâtonnet, colonies irrégulières arborescentes, gélatine non liquéfiée, lait non coagulé : *Bif. bifurcatum* (Choukevitch) nv. comb. (primitivement *Bacillus*).

Troisième Genre : *Corynebacterium* Lehmann et Neumann 1896

La possibilité d'espèces anaérobies appartenant à ce genre avait été reconnue dès 1923 par Bergey, qui classa dans *Corynebacterium* l'espèce *lymphophilum* découverte par Torrey en 1916. En 1926, Meyer classa d'emblée dans le même genre l'espèce *parvum infectiosum* décrite par lui. Nous rangeons dans ce genre (8), outre ces deux espèces, huit autres qui ont la morphologie typique des corynébactéries, ce qui porte à dix le nombre actuel des espèces anaérobies de ce genre.

En voici la clef :

## A. Espèces gazeuses :

1. Taille moyenne, anaérobie strict, gélatine non liquéfiée, lait non coagulé, glucidolytique, indologène, non pathogène : *C. diphteroides* (Jungano) nv. comb. (primitivement *Bacillus*).

2. De grande taille, gélatine liquéfiée, lait coagulé et partiellement digéré, H<sub>2</sub>S, pas d'indol glucidolytique : *C. avidum* (Eggerth) nv. comb. (primitivement *Bacteroides*).

3. Microaérophile, acidophile, non pathogène : *C. renale cuniculi* (Manteufel et Herzberg) nv. comb. (primitivement *Bacterium*).

## B. Espèces non gazeuses :

4. Petite taille, acidophile, colonies polyédriques, glucidolytique, gélatine non liquéfiée, lait non coagulé, non pathogène : *C. lymphophilum* (Torrey) Bergey et al. (primitivement *Bacillus*).

5. Microaérophile, glucidolytique, lait non modifié, gélatine non liquéfiée, non pathogène : *C. hepatodystrophicans* (Kuczinski) nv. comb. (primitivement *Bacillus*).

6. Petite taille, microaérophile, glucidolytique, pathogène : *C. parvum infectiosum* Meyer.

7. Taille moyenne, anaérobie strict, colonies lenticulaires, pas d'indol, lait coagulé, peu pathogène : *C. anaerobium* (Massini) nv. comb. (primitivement *Bacillus*).

8. Taille moyenne, anaérobie strict, colonies rondes, lait non coagulé, gélatine non liquéfiée, glucidolytique : *C. granulosum* (Jungano) nv. comb. (primitivement *Bacillus*).

9. Petite taille, colonies lenticulaires, non protéolytique, non glucidolytique, pas d'indol, non pathogène : *C. adamsoni* (Adamson) nv. dnm. (jusqu'ici ni nommé ni classé).

10. Petite taille, polymorphe, anaérobie strict, colonies rondes, liquéfie la gélatine, coagule le lait, peu glucidolytique : *C. liquefaciens* (Jungano) nv. dnm. (primitivement *Bacillus*).

(8) Nous avons exposé plus haut pour quelles raisons d'autres espèces rattachées à tort à *Corynebacterium* (rf. *necrophorus* sp.) ont été reclassées ailleurs (*Spherophorus*).

ESPÈCES LIBÉRÉES par la suppression du terme générique <i>Bacteroides</i>	GENRES anciens et nouveaux qui les groupent	FAMILLES anciennes et nouvelles groupant ces genres	ORDRES dans lesquels rentrent ces familles
<i>Fragilis, melaninogenica, haloseptica, terebrans, putredinis, furcosa, pulida, clostridiiformis, perfatens, thermophila</i> $\beta$ et $\gamma$ , <i>incommunis, insolita, naviformis, lichenis-planis, destillationis, uniformis, distasonis, uncata, tumida, exigua, trichoides, glutinosa, capillosa, cylindroides.</i>	<b>Ristella.</b>	<b>Ristellaceæ.</b>	
<i>Vulgata, ovata, convexa, coagulans.</i>	<b>Pasteurella.</b>		
<i>Pneumosintes, granuliformans.</i>	<b>Dialister.</b>		
<i>Zoogleiformans, mucosus, variabilis.</i>	<b>Capsularis.</b>		
<i>Serpens, praeacuta, clostridiiformis mobilis, aquatilis, variegata, rhinitis.</i>	<b>Zuberella.</b>		
<i>Fædans, niosii, rectale, obsti, quartum, ethylicum, cadaveris, tortuosum, aerofaciens, biforme, limosum, disciformans, poeciloides, tiphie-anthematis, pyogenes bovis, ventriosum, minutum, parvum, lentum.</i>	<b>Eubacterium.</b>	<b>Bacteriaceæ.</b>	<b>Bacteriales.</b>
<i>Helminthoides, filamentosum, lottii, catenaforme, nigrum, leptothrixoides.</i>	<b>Catenabacterium.</b>		
<i>Ramosum, variétés <math>\beta</math> et <math>\gamma</math>, ramosoides, pseudo-ramosum.</i>	<b>Ramibacterium.</b>		
<i>Moniliforme, endocarditis, meningitis, spatuliforme, multiforme.</i>	<b>Gillobacterium.</b>		
<i>Necrophorus, funduliformis, necrogenes, necroticus, peritonitis, gulosus, inæqualis, varius, siccus, mortiferus, freundi, pyogenes, gonidiaformans, floccosus, influenzaformis, caviæ.</i>	<b>Spherophorus.</b>	<b>Spherophoraceæ.</b>	
<i>Bullosus, thetaiotaomicron, wirthi.</i>	<b>Spheroillus.</b>		
<i>Fusiformis, biacutus, vescus.</i>	<b>Fusiformis.</b>		
<i>Shmamini, plauti.</i>	<b>Fusocillus.</b>		
<i>Innominala, tenuis.</i>	<b>Pseudoleptothrix.</b>	<b>Actinomycetales.</b>	
<i>Israeli, meyeri, abcessus.</i>	<b>Actinobacterium.</b>		
<i>Bifidum, appendicitis, constellatum, cornutum, bifurcatum, intestinalis.</i>	<b>Bifidibacterium.</b>		
<i>Diphtheroides, avidum, renale, cuniculi, lymphophilum, hepatodys-trophicans, parvum infectiosum, anærobium, granulosum, adamsoni, liquefaciens.</i>	<b>Corynebacterium.</b>		

## CONCLUSIONS.

1° Le terme générique *Bacteroides* Castellani et Chalmers est insuffisamment précis, ce qui a permis de grouper sous ce nom des espèces qui ne sont pas toutes parentes entre elles.

2° La suppression de ce terme libère cent vingt espèces qu'une classification naturelle répartit en dix-sept genres (dont six anciens et onze nouveaux), eux-mêmes appartenant à quatre familles (dont deux anciennes et deux nouvelles), elles-mêmes rattachées à deux ordres (dont un ancien et un nouveau).

3° Cette nouvelle classification, résumée dans le tableau ci-joint, modifie la classification de Bergey et al., tout en restant compatible avec elle, moyennant les aménagements suivants : introduction des nouveaux genres *Eubacterium*, *Catenabacterium*, *Ramibacterium* et *Cillobacterium* dans la famille connue des *Bacteriaceæ* ; des genres *Ristella*, *Capsularis* et *Zuberella* dans la famille nouvelle des *Ristellaceæ* ; la réunion de ces deux familles dans l'ordre des *Bacteriales* (Eubacteriales asporulées) ; l'introduction des genres nouveaux : *Spherophorus*, *Spherocillus*, *Fusocillus* et *Pseudoleptothrix* dans la nouvelle famille des *Spherophoraceæ*, qui, avec la famille des *Actinomycetaceæ* modifiée, constitue l'ordre connu des *Actinomycetales*. Cette dernière modification entraîne le transfert des genres connus *Corynebacterium* et *Fusiformis*, le premier dans la famille des *Actinomycetaceæ*, le second dans celle des *Spherophoraceæ*.

4° Par suite de ces remaniements, s'ajoutant à ceux que nous avons proposés en 1933, les *Eubacteriales* Buchanan doivent être considérés comme une classe, ce qui oblige une fois de plus à évaluer les Schizomycètes Naegeli comme un embranchement.

## BIBLIOGRAPHIE

- [1] PRÉVOT (A.-R.). Etudes de systématique bactérienne : I. Lois générales ; II. Cocci anaérobies. *Ann. des Sc. Nat., Botanique* 1933, 10<sup>e</sup> série, **15**, p. 23 à 260.
- [2] CASTELLANI et CHALMERS. *Manual of Tropical Medicine*, 1919.

- [3] RAHN (O.), LAUBENGEYER et MAUSFIELD. Contributions to the classification of Bacteria VIII, The relation of some Bacteroides species to the lactobacilli. *Zbl. f. Bakt.*, II, **79**, 1929, p. 338.
- [4] LEVINTHAL. Ueber die anaeroben Flora der menschlichen Rachenschleimhaut. *Zbl. f. Bakt.*, I, **106**, 1928, p. 195.
- [5] RIST. Etudes bactériologiques sur les infections d'origine otique. *Thèse de Paris*, 1898. — Note sur 7 cas de salpingite suppurée examinés bactériologiquement, *C. R. Soc. Biol.*, 1902, p. 305. — Anaérobies pathogènes et suppurations gangréneuses, *B. I. P.*, 1905, p. 49 et 95.
- [6] VEILLON et ZUBER. Sur quelques microbes strictement anaérobies et leur rôle en pathologie. *Ann. Med. exp.*, 1898, p. 542.
- [7] EGGERTH et GAGNON. The Bacteroides of human feces. *J. of Bact.*, **25**, 1933, p. 389.
- [8] EGGERTH. The Gram-positive non spore bearing anaerobic bacilli of human feces. *J. of Bact.*, 1935, p. 30.
- [9] PUNTONI et LEONARDI. Sulla sistematica degli attinomiceti. Proporta del nuovo genere : Asteroides. *Ann. d'Ig.*, 1936, p. 529.
- [10] PUNTONI. Sulla derivazione degli attinomiceti anaerobi. *Boll. e atti della Reale Acc. med. di Roma*, **14**, 1936, p. 237.
- [11] PUNTONI. Sulle relazioni tra il B. bifido e gli attinomiceti anaerobi tipo Wolff e Israel. *Ann. d'Ig.*, 1937, p. 175.
- [12] JOANNIDÈS. Contribution à l'étude du *Cohnistreptothrix israeli*. *Ces Annales*, **58**, 1937, p. 592.
- [13] ORLA-JENSEN. Einige Bemerkungen zu dem von Kluyver und van Niel vorgeschlagenen natürlichen Bakteriensystem. *Zbl. f. Bakt.*, II, **95**, 1937, p. 478.

# **“ INCLUSIONS ” CELLULAIRES ACIDOPHILES DANS LE TISSU NERVEUX ET DANS LE REIN DES PIGEONS “ NORMAUX ”**

Par S. NICOLAU et L. KOPCIOWSKA.

Nous avons trouvé dans les cellules nerveuses et rénales de pigeons « normaux », des formations particulières, dont quelques-unes semblent pouvoir être rattachées aux « inclusions » qui apparaissent chez les mammifères au cours de l'intoxication saturnienne (1), ou à celles engendrées par les ultravirus.

**SYSTÈME NERVEUX.** — Nous avons pu mettre en évidence dans le système nerveux, trois sortes d'« inclusions » :

1° Chez un pigeon neuf, nous avons trouvé dans les neurones encéphaliques, des « inclusions » cytoplasmiques, constituées par des amas irréguliers de grains éosinophiles (coloration de Mann) plus ou moins serrés en grappes. Ces « inclusions » (fig. 1) — qui rappellent les corps de Negri d'aspect particulier que l'un de nous a fait figurer dans une planche en couleurs illustrant un mémoire sur la maladie du chien fou (2) — siègent dans les cellules nerveuses des noyaux thalamiques, dans les deux hémisphères, de manière symétrique, dans des zones encéphaliques qui ne correspondent pas à celles où l'on trouve normalement des granulations oxyphiles cytoplasmiques. Le cerveau de ce pigeon présentait, en outre, une légère méningite basilaire chronique et une infiltration des parois ventriculaires à mononucléaires, sans lésions d'encéphalite parenchymateuse.

2° Dans les neurones des ganglions spinaux de plusieurs

(1) NICOLAU (S.) et BAFFET (O). *C. R. de la Soc. de Biol.*, **126**, 1937, p. 659.

(2) NICOLAU (S.), MATHIS (G.) et CONSTANTINESCO (Val.). *Ces Annales*, **50**, 1933, p. 778

pigeons neufs, nous avons pu déceler des inclusions intranucléaires ayant l'aspect de corpuscules de Joest-Degen (maladie

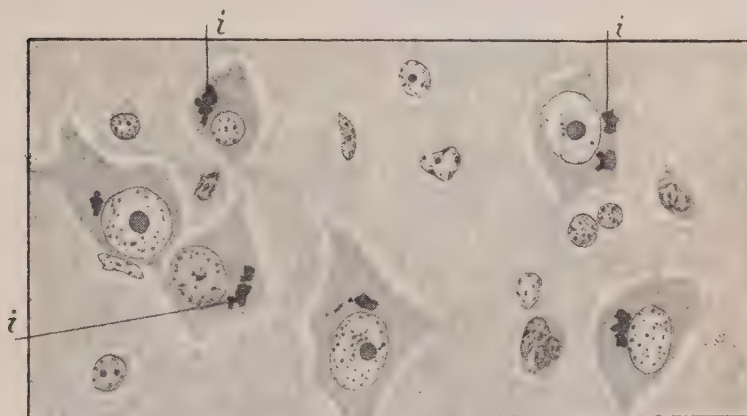


FIG. 1. — Cerveau de pigeon « normal »; neurones des noyaux thalamiques, renfermant dans le cytoplasme des « inclusions » (*i*).

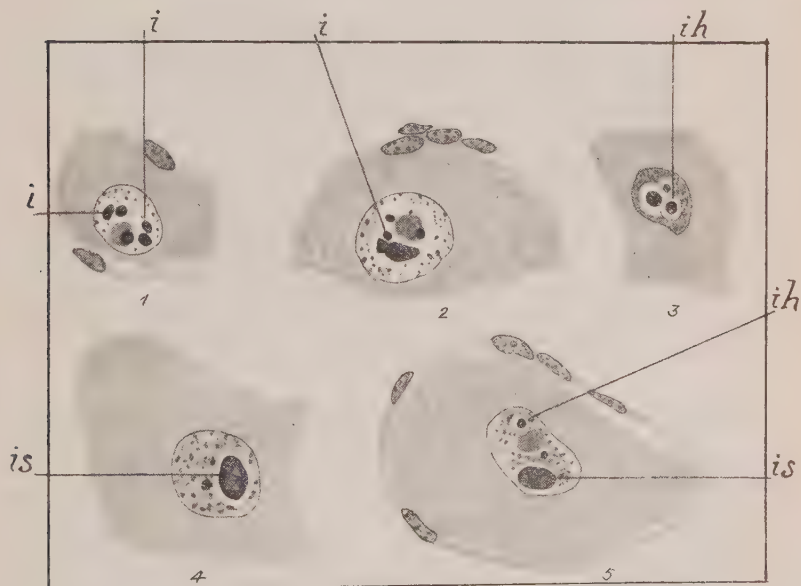


FIG. 2. — Neurones des ganglions spinaux de pigeons « normaux »; inclusions nucléaires; *i*, petites inclusions; *ih*, petites inclusions entourées de halo, semblables aux corpuscules de Joest-Degen; *is*, inclusions volumineuses à structure interne complexe.

de Borna), tantôt petites, isolées, ou amassées en grappes, tantôt volumineuses, pouvant atteindre 3 à 4  $\mu$  de diamètre, rondes ou oblongues, parfois avec une structure interne semblable à celle des inclusions de Borna, souvent par une ou par deux seulement dans le même noyau, entourées ou non de halo (fig. 2). Ces inclusions, très éosinophiles, se colorant en rouge brillant par la méthode de Mann, ont une ressemblance frappante avec les vraies inclusions produites par des ultravirus.

3° Toujours dans les ganglions spinaux, nous avons trouvé

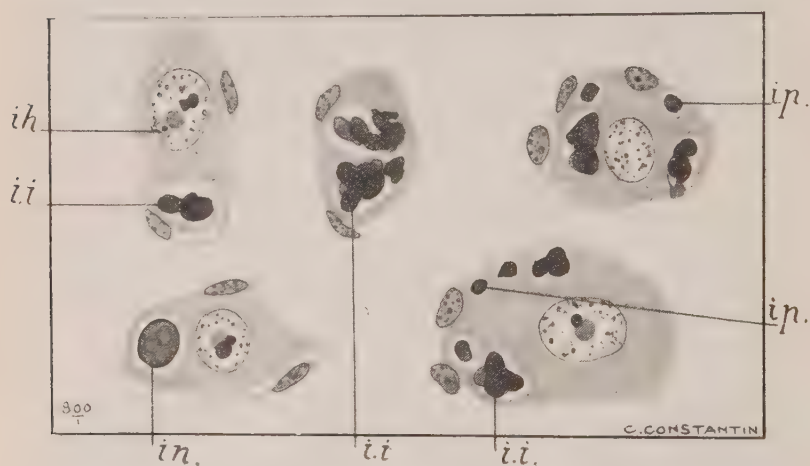


FIG. 3. — Neurones des ganglions spinaux de pigeons « normaux » ; « inclusions » cytoplasmiques ; *ip*, petites formations intracytoplasmiques, entourées de halo ; *ii*, formations intraprotoplasmiques irrégulières, en plaques de formes différentes, superposées ; *in*, « inclusion » sphérique, à structure interne complexe, ressemblant à un corpuscule de Negri ; *ih*, « inclusion » nucléaire entourée de halo.

des formations curieuses incluses dans le cytoplasme des neurones. Ces « inclusions » se présentent soit comme des corpuscules uniques sous l'aspect de corps de Negri à structure interne complexe et atteignant des dimensions de 4 à 10  $\mu$ , intensément éosinophiles (Mann), soit, ce qui arrive le plus souvent, par plusieurs dans la même cellule, de dimensions variables, de forme irrégulière, parfois plus ou moins arrondies, isolées ou groupées (fig. 3) ; nombre de ces formations paraissent complètement amorphes et se colorent à peine en rose pâle.

voire même en bleu (Mann). Leur relief est particulier : elles peuvent être sphériques ou ovoïdes, mais souvent elles revêtent l'aspect de plaques superposées, à volume très irrégulier.

Il est intéressant de constater que, chez les pigeons qui ont les corpuscules décrits au point 2) et 3), on peut trouver des

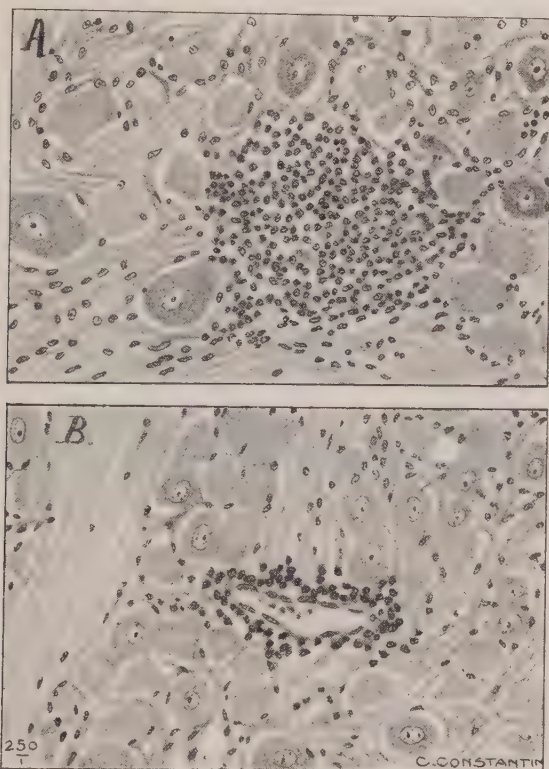


FIG. 4. — Ganglions spinaux de pigeons « normaux » ; A, nodule d'infiltration à cellules mononucléaires, entre les neurones ; B, processus de périvascularite.

altérations histologiques dans les ganglions spinaux et dans les racines nerveuses, se traduisant par des infiltrations interstitielles, parfois à caractère nodulaire, et par des processus de périvascularite (fig 4 et 5). En outre, nous avons rencontré dans les ganglions spinaux de ces oiseaux, des nodules post-neuropagiques : l'emplacement de neurones détruits était occupé

par des cellules d'infiltration, par des macrophages et par des cellules capsulaires proliférées (fig. 6). Mais, hâtons-nous de le dire, la présence d'« inclusions » n'implique pas forcément celle des modifications histologiques. Mentionnons également, que la richesse en « inclusions » (nucléaires ou cytoplasmiques) n'est pas la même pour tous les ganglions spinaux du même volatile.

Sur 9 pigeons neufs, nous avons trouvé 7 fois les inclusions de type Borna dans les noyaux des cellules nerveuses ganglionnaires (2 fois des inclusions très nombreuses), et 3 fois les

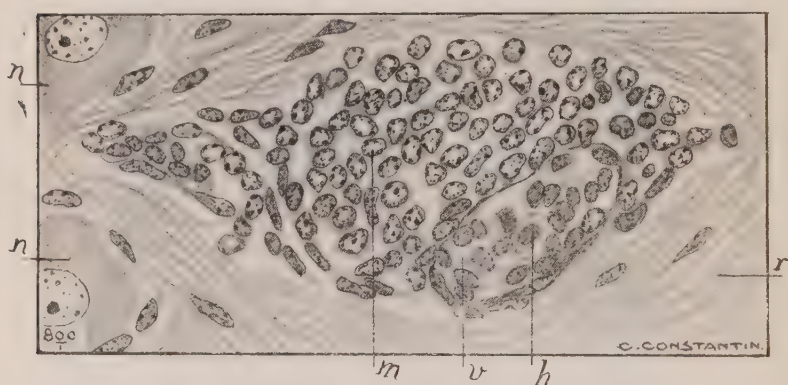


FIG. 5. — Processus de périvasculite ayant l'aspect d'un nodule gommeux, dans la portion juxta-ganglionnaire d'une racine nerveuse; *n*, neurones ganglionnaires; *m*, cellules mononucléaires d'infiltration; *v*, vaisseau; *h*, hématies; *r*, racine nerveuse.

inclusions cytoplasmiques (1 fois très nombreuses) ; 1 fois sur 3, ces dernières formations ne coexistaient pas avec les inclusions nucléaires.

Sur 9 autres pigeons, inoculés avec la maladie d'Aujeszky, nous avons trouvé 5 fois les inclusions nucléaires des ganglions spinaux signalées plus haut, et 4 fois seulement les formations incluses dans le cytoplasme.

*Rein.* Chez 3 sur 9 pigeons morts de la maladie d'Aujeszky, conférée par inoculation sous-dure-mérienne, nous avons constaté la présence « d'inclusions » éosinophiles dans le noyau et dans le cytoplasme des cellules rénales. Ces formations, absen-

tes chez 9 pigeons témoins non infectés, n'ont pas été retrouvées ni chez les poules, ni chez les nombreux mammifères ayant succombé à cette même maladie expérimentale. Nous croyons pouvoir conclure qu'il s'agit de formations particulières préexistant dans l'organisme des pigeons, comme d'ailleurs les trois autres sortes d'« inclusions » spontanées mentionnées plus haut. Les « inclusions » des cellules rénales, de beaucoup plus fréquentes dans le noyau que dans le cyto-

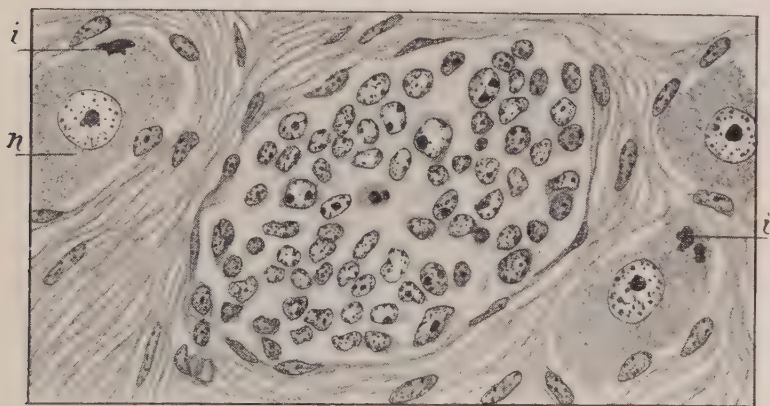


FIG. 6. — Nodule post-neuronophagique dans un ganglion spinal d'un pigeon « normal » ; *n*, neurone ; *i*, « inclusions » cytoplasmiques.

plasme, se présentent sous forme de corpuscules plus ou moins arrondis, réfringents, de dimensions variant entre 1 et 4  $\mu$ , se colorant en rouge vif avec la méthode de Mann. Elles siègent dans la zone corticale de l'organe, jamais dans les cellules des tubes droits, et ont un aspect qui les rapproche davantage de celui des vraies inclusions provoquées par des ultravirus, que de celui des « inclusions » saturniennes (fig. 7).

Ces quatre variétés d'« inclusions » : *a*) cytoplasmiques dans les neurones du cerveau ; *b*) nucléaires dans les neurones des ganglions spinaux ; *c*) cytoplasmiques dans ces mêmes cellules nerveuses ; *d*) nucléaires et cytoplasmiques dans les cellules rénales, sont-elles l'expression morphologique de l'action d'un seul et même agent toxique ou infectieux ? Nous ne le croyons pas, car chaque catégorie de ces formations peut

exister chez un pigeon à l'exclusion des trois autres. Sont-elles produites par des agents virulents différents et représentent-elles « la signature » de virus d'infections spontanées ? Nous le pensons au moins pour ce qui concerne une partie d'entre elles, sans apporter pour l'instant d'autres preuves que la

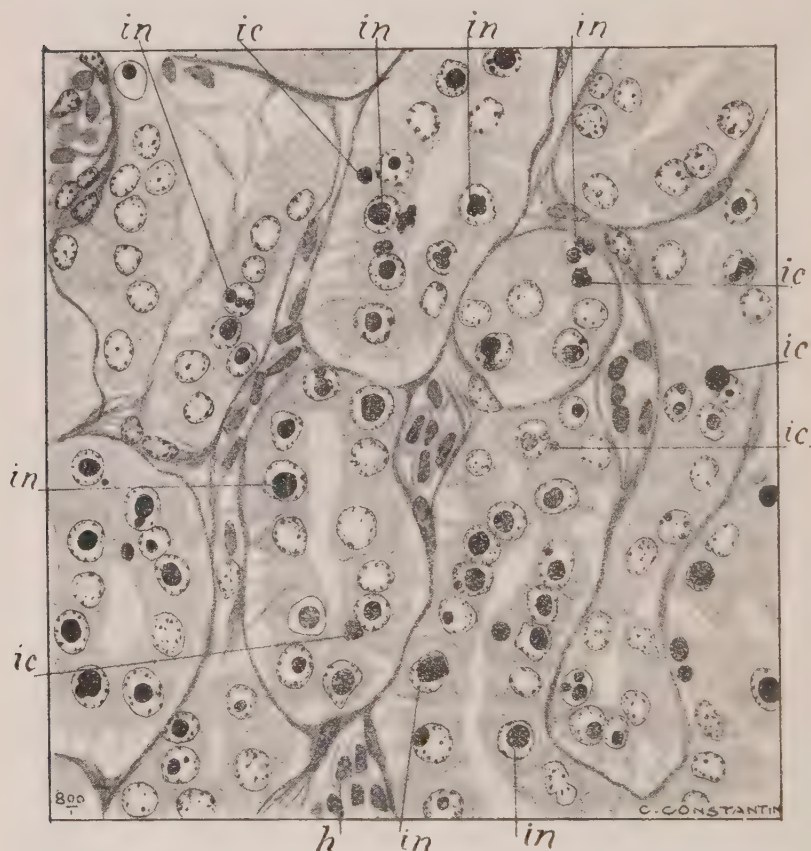


Fig. 7. — Rein de pigeon, riche en inclusions; *in*, inclusions nucléaires; *ic*, inclusions cytoplasmiques; *h*, hématies.

présence de quelques lésions inflammatoires chroniques coexistantes, et la ressemblance qui existe entre ces formations intracellulaires et les inclusions à ultravirus.

Cette interprétation nous fait supposer que le monde des virus dont l'activité pathogène ne se traduit pas chez les ani-

maux par des symptômes cliniques, mais seulement par des découvertes fortuites d'histo-pathologie, doit être vaste (3). Il ne s'agit pas de germes « pathogènes » dans l'acception habituelle du mot, car ils n'engendrent pas de maladies appréciables cliniquement [chien (4), souris (5), campagnol (6), pigeon] ; il ne s'agit pas, non plus, d'infra-microbes « saprophytes », car on comprend par ce terme des micro-organismes qui n'attaquent pas les tissus et qui, par conséquent, ne devraient pas y engendrer des inclusions ; il s'agirait d'infra-microbes inconnus, déterminant une multitude de maladies inapparentes.

La connaissance de ces notions enrichit notre domaine de recherches et permet d'éviter des erreurs d'interprétation dans l'étude histo-pathologique des virus catalogués (7).

(3) Dans un travail précédent (*Ces Annales*, **57**, 1936, p. 244), nous avons mentionné quelques variétés d'inclusions spontanées décrites par divers auteurs, chez des espèces animales différentes.

(4) NICOLAU (S.) et KOPCIEWSKA (L.), *loc. cit.*

(5) NICOLAU (S.), KOPCIEWSKA (L.) et BALMUS (G). *C. R. Soc. Biol.*, **113**, 1933, p. 851.

(6) NICOLAU (S.), KOPCIEWSKA (L.), GALLOWAY (I. A.) et BALMUS (G.). *C. R. Soc. Biol.*, **114**, 1933, p. 441.

(7) Ainsi, certains auteurs anglais ont pensé que les inclusions trouvées dans le cerveau des souris mortes de la tremblante des moutons expérimentale, pourraient être en rapport avec le virus inoculé ; nous avons démontré que ces inclusions préexistaient dans le cerveau de la souris et qu'elles étaient l'expression d'une maladie spontanée, inapparente.

# **NOUVELLES RECHERCHES SUR LE POLYMORPHISME DU VIRUS SYPHILITIQUE DANS LES GANGLIONS LYMPHATIQUES DU LAPIN**

par W. NYKA.

L'existence, chez le lapin syphilité, de ganglions lymphatiques, très virulents encore que contenant peu ou pas de spirochètes, constitue, du point de vue syphilis expérimentale, un fait de première importance et, sans doute, de même ordre que la rareté ou l'absence — au moins apparente — des tréponèmes dans les organes de certains syphilitiques au stade tertiaire de l'affection. La cause du phénomène est, selon toute vraisemblance, la même chez l'animal et chez l'homme : l'établir chez l'un serait l'établir chez l'autre.

Actuellement, deux hypothèses tentent d'expliquer cette virulence des ganglions lymphatiques — aspirochètiens ou presque — du lapin syphilité. Pour les uns, les spirochètes se trouveraient dans les ganglions, mais en si petite quantité que leur mise en évidence y serait très difficile ; pour les autres, l'organe renfermerait non le tréponème avec sa morphologie classique, mais le virus syphilitique sous une forme différente. Parmi les unicistes, Bessemans (1936), utilisant une technique personnelle et l'examen sur fond noir, a décelé la présence de spirochètes typiques mais peu nombreux, non seulement dans les broyats de ganglions lymphatiques prélevés chez des lapins syphilités — présence déjà signalée par Truffi en 1913 —, mais encore dans le cerveau de souris inoculées. En réalité, cette constatation n'est pas une preuve de l'exactitude absolue de la thèse uniciste, car, et presque tous les expérimentateurs sont d'accord sur ce point, il faut, pour transmettre l'infection à un lapin, l'inoculer avec des produits contenant non pas quelques tréponèmes, comme c'est le cas du tissu ganglionnaire, mais un grand nombre de ceux-ci.

Frappés par la régularité avec laquelle ils réussissaient à transmettre la syphilis au lapin en partant de ganglions lymphatiques, apparemment aspirochètiens, d'animaux syphilisés, Pearce et Brown (1922) ont été amenés à émettre l'hypothèse que, dans la production de l'orchite spécifique chez le lapin, le nombre des spirochètes inoculés est moins important que la virulence de ces micro-organismes. Voici d'ailleurs ce que ces auteurs écrivent à ce propos dans leur remarquable travail sur les relations entre les tréponèmes pâles et les ganglions lymphatiques des lapins syphilisés :

« Thus we are forced to the conclusion by the results of these experiments that actual numbers of spirochetes may play a very small role as a causative factor in producing an active progressive syphilitic orchitis and that the state of vitality or degree of infectivity of the spirochetes is of much greater importance. »

En butte aux mêmes difficultés que Pearce et Brown, Bessemans (1936), faisant sienne l'hypothèse émise par ces deux auteurs, établit une distinction entre les « tréponèmes syphilomateux » et les « tréponèmes ganglionnaires », attribuant à ceux-ci une virulence beaucoup plus grande qu'à ceux-là. A l'appui de sa théorie, il a rapporté les résultats d'expériences ayant consisté à inoculer des lapins avec des suspensions préparées à partir de quantités égales de tissu soit ganglionnaire, soit syphilomateux, suspensions diluées de façon à ce que les premières contiennent, par dose injectée, quelques centaines, les secondes quelques dizaines, voire quelques unités tréponémiques.

Or, l'inoculation de ces suspensions délayées a donné un résultat négatif chez les animaux inoculés avec la suspension de syphilomes et un résultat positif chez ceux injectés avec la suspension de ganglions. Et Bessemans conclut que le tréponème syphilomateux est des centaines de fois moins virulent que le tréponème d'origine ganglionnaire (1).

(1) A notre sens, cette série d'expériences, loin d'établir la virulence particulière des tréponèmes ganglionnaires, prouve uniquement qu'à poids égal le tissu ganglionnaire est plus virulent que le tissu syphilomateux et ce, pour des raisons qui tiennent d'une part, aux tréponèmes dont cet auteur a évalué approximativement le nombre, d'autre

Parmi les auteurs qui admettent l'existence de formes du virus syphilitique différentes de la forme tréponémique classique, les uns (Levaditi, 1928) expliquent la virulence des ganglions par la présence, au sein de ceux-ci, du parasite de la syphilis sous forme d'un ultravirus ; d'autres (Nyka, 1933), l'attribuent à la présence de formes filamenteuses. Manouelian appelle ultravirus syphilitique « des granules extrêmement fins munis de filaments ténus » qu'il a décelés dans des gommages (1931). Dans un autre travail (1935), cet auteur abandonne le terme ultravirus et nomme « spirochétogènes » des formes analogues à celles qu'il avait vues dans des gommages et que, depuis, il a réussi à mettre en évidence dans les ganglions poplités de lapins syphilitisés. Le spirochétogène (représenté dans sa forme la plus simple par un granule plus ou moins fin, et par un filament périplasmique accessoire, de longueur, forme et calibre variables) serait le « germe du spirochète », celui-ci naissant soit directement, soit après division du granule. Ce serait aussi la forme de résistance du virus syphilitique.

La théorie de l'ultravirus syphilitique, formulée par Levaditi, est basée, entre autres, sur la présence de granulations très fines, disséminées entre les tréponèmes que cet auteur a décelées dans des syphilomes de lapins. Levaditi a émis l'hypothèse que ces grains ultra-microscopiques provenaient des scissions du spirochète syphilitique, chacun d'eux représentant un nouveau parasite. Il semble d'ailleurs que sur ce point Levaditi ait modifié son opinion et n'y attache plus (1936) que l'importance qu'il convient d'attribuer à toute hypothèse de travail.

Quant à l'existence du virus syphilitique sous forme de filaments que nous avons mis en évidence dans les ganglions lymphatiques du lapin (1933), Manouelian (1933) a vu dans ces organes, à côté de spirochètes minuscules, des spirochétogènes à un ou plusieurs granules. Dans ce dernier cas, le spirochétogène présentait l'aspect d'un chapelet.

part, aux débris de tissu. En effet, les débris de tissu ganglionnaire étaient, nos recherches nous autorisent à l'affirmer, remplis de parasites syphilitiques sous forme filamenteuse.

\*  
\* \*

Dans des travaux antérieurs (1933-1934), nous avons montré que l'agent étiologique de la syphilis est un virus polymorphe comportant deux formes distinctes, l'une filamenteuse, l'autre spiralée ; la première étant la forme d'état du virus syphilitique, l'autre une forme passagère. Nous avons étudié la signification biologique de chacune d'elles, notamment leur rôle dans la multiplication et dans l'action pathogène du virus syphilitique, celle-ci étant intimement liée à la pénétration du parasite sous sa forme tréponémique à l'intérieur des cellules.

Dans le présent travail, nous apportons de nouveaux documents relatifs au polymorphisme du virus syphilitique, *en ne tenant compte que des parasites extra-cellulaires*. Nous étudierons ultérieurement les formes intra-cellulaires ainsi que les conséquences pour la cellule de la pénétration du virus syphilitique à l'intérieur du noyau

\*  
\* \*

Nos recherches ont été réalisées sur des ganglions d'animaux inoculés par voie intratesticulaire avec la souche Truffi. Les pièces ont été imprégnées suivant la technique que nous avons précédemment indiquée (1934). Nous exposerons, tour à tour, les constatations faites au niveau des ganglions iliaques, inguinaux, poplités.

I. GANGLIONS ILIAQUES. — Ils sont toujours augmentés de volume à la période des syphilomes, mais à un degré variable : chez certains animaux, on note seulement une très légère hypertrophie des ganglions siégeant à la bifurcation des gros vaisseaux abdominaux ; chez d'autres, ils atteignent un volume considérable, celui d'un grain d'orge ou même d'un haricot. Dans ce cas, on trouve, d'ordinaire un ou deux ganglions isolés, situés au-dessus de la bifurcation de l'aorte abdominale et, dans le bassin, plusieurs gros ganglions soudés entre eux et formant une masse lymphatique

gris clair, transparente, molle, friable, qui engaine les troncs vasculaires iliaques. A la surface de certains ganglions existe un semis de petits nodules grisâtres se détachant nettement sur le fond translucide du tissu ganglionnaire enflammé.

Sur les coupes colorées à l'hématéine-éosine, ces ganglions présentent des signes d'inflammation aiguë : effacement des sinus et des centres germinatifs envahis par un afflux d'éléments réactionnels, grâce auxquels l'organe prend une structure homogène, en nappe diffuse, criblée seulement de vaisseaux sanguins et de vastes lacs lymphatiques. Parfois, on note la présence de zones étendues constituées par un coagulum fibrineux emprisonnant un nombre variable de cellules lymphatiques. C'est probablement cette imbibition des ganglions iliaques par la lymphe et la fibrine qui leur donne cet aspect translucide si particulier.

Dans les ganglions provenant d'animaux sacrifiés à la période des syphilomes (pièces 950, 1002 et 1016), nous avons trouvé le virus syphilitique sous sa forme tréponémique et sa forme filamenteuse. Les premières sont rares ; elles se caractérisent par leur aspect classique et leur parfaite colorabilité. La figure 1 (pièce 950) représente un de ces spirochètes typiques suspendu dans une flaque de lymphe. Quelques autres parasites spiralés ont été décelés dans ce ganglion entre les cellules lymphatiques ; de forme typique ils sont colorés en brun très clair.

Quant aux formes filamenteuses, il en existe de courtes et de longues. Les courtes ressemblent à de fins bâtonnets droits ou légèrement incurvés, parfois renflés à l'une ou aux deux extrémités. Ceux qui portent un renflement à une seule extrémité rappellent de fines virgules. La figure 1, à gauche, montre deux filaments dont la longueur est à peu près celle d'un tréponème. Longs, légèrement sinueux, se croisant, ils ont une forme parfaitement régulière sans renflement, ni boutons terminaux, ni trace d'ondulation ; tous deux sont parfaitement colorés en noir et ne présentent pas la moindre granulation (2) Au-dessous de ceux-ci, on en voit un

(2) Signalons que dans la zone fibrineuse du ganglion (lapin B 67) n° 1002, nous avons vu des spirochètes très bien colorés mais plus

autre, également long, incurvé en S, mais faiblement coloré et pourvu, au niveau de son extrémité supérieure, de granulations confluentes dont le volume ne dépasse pas le calibre du filament lui-même. Au-dessus des deux filaments précédemment décrits, existe un filament court, incurvé en virgule, aux extrémités effilées, coloré en noir. Quant au filament qui accompagne le spirochète (figure 1 à droite), il est, comme celui situé au-dessous des deux filaments colorés

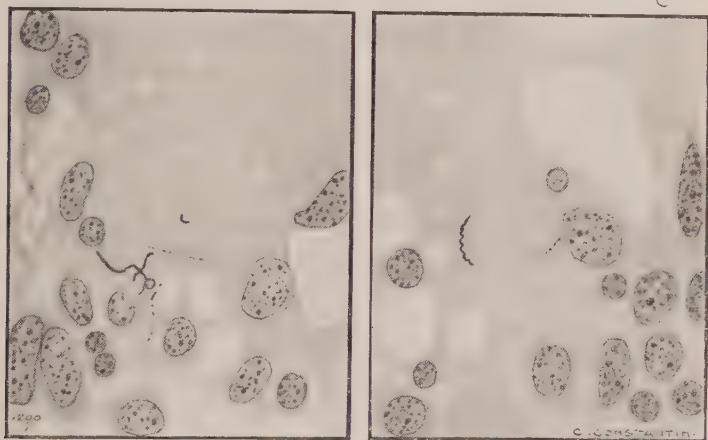


FIG. 1. — Ganglion iliaque du lapin 94 sacrifié au stade des syphilomes. A gauche : deux filaments longs croisés, colorés en noir, sans granulations. Au-dessous, un long filament faiblement coloré pourvu de granulations; au-dessus, filament court incurvé en forme de virgule, avec des extrémités effilées, coloré en noir. A droite : un spirochète typique accompagné, à droite, d'un filament granulaire.

en noir (figure 1 à gauche), très faiblement coloré et parsemé de granulations.

A noter que les parasites ne semblent pas avoir de localisation élective. On les trouve aussi bien dans la zone marginale qu'au centre du ganglion. Toutefois, entre les cellules lymphatiques, ils s'observent rarement et seulement isolés ou

longs que ceux que l'on peut considérer comme classiques ; la longueur de certains était sensiblement double de celle d'un spirochète normal ; on peut se demander si, dans ce cas, il ne s'agissait pas de deux spirochètes réunis bout à bout suivant le processus que nous avons eu l'occasion d'observer *in vitro* (1935).

par groupe de quelques éléments. Par contre, dans les flaqes lymphatiques, ils existent en grand nombre, mais exclusivement sous la forme filamenteuse et, parce que très faiblement colorés, difficiles à voir. Dans certaines flaqes, il semble n'y avoir que de fines granulations noires disséminées sans ordre apparent dans la lymphe coagulée ; à un examen plus attentif, surtout en diaphragmant légèrement, on voit que ces granulations ne sont pas isolées et, qu'en réalité, elles se prolongent par des filaments plus ou moins longs, très distincts à la lumière atténuée. D'une manière générale, les granulations terminales sont plus nettement visibles que celles de la partie centrale du filament et ce sont elles qui, bien souvent, permettent de déceler le parasite.

II. GANGLIONS INGUINAUX. — Les ganglions inguinaux des lapins syphilités ont été relativement peu étudiés, encore que Pearce et Brown (1922) aient insisté sur l'hyperplasie qu'ils présentent quelques jours après l'inoculation des animaux : hyperplasie constante, mais légère puisque l'augmentation de leur volume ne va pas toujours jusqu'à atteindre la dimension d'un pois et, dans ces conditions, n'attire pas l'attention de l'expérimentateur.

Par contre, on observe parfois de beaux ganglions inguinaux chez les animaux porteurs de très gros syphilomes. D'une manière générale, ils coexistent avec de volumineux ganglions iliaques et cette coexistence incline à penser que l'hyperplasie des ganglions lymphatiques, chez certains animaux, est due non seulement à l'action du virus syphilitique, mais aussi à une sensibilité particulière à l'infection spécifique de leur système ganglionnaire.

Contrairement à ce qui s'observe chez le lapin mâle, chez la lapine syphilitée par voie intracrotidienne les ganglions inguinaux sont, au stade du chancre, régulièrement très volumineux et très faciles à déceler à la palpation. Par contre, alors que chez le mâle les adénopathies inguinales sont bilatérales, chez la femelle on ne trouve habituellement qu'un seul gros ganglion dans la région sus-pubienne.

La constance de la forte réaction ganglionnaire observée

chez la lapine syphilitisée s'explique peut-être, en partie du moins, par l'évolution de la lésion primaire chez cet animal. Nos lapines étaient inoculées par injection dans le clitoris de quelques gouttes de suspension de syphilomes ; quelques semaines ou quelques mois après, on notait, chez certaines d'entre elles, l'apparition au point d'inoculation d'un petit

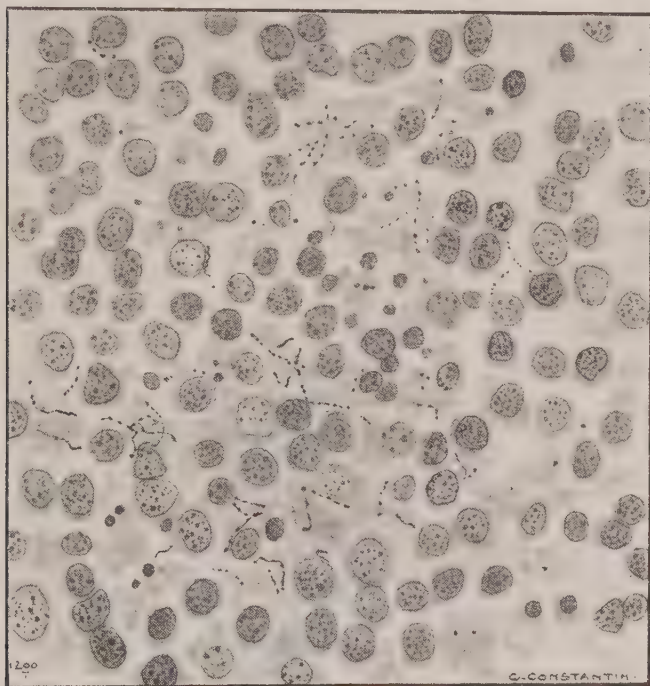


FIG. 2. — Pièce n° 829. Ganglion inguinal de la lapine 17 inoculée par voie intra-clitoridienne, morte d'infection pulmonaire au stade du chancre. Nombreux filaments longs et courts, droits ou incurvés, parfois légèrement onduleux, granulaires, isolés ou groupés en petits amas, disséminés entre les cellules lymphatiques.

nodule dur qui, ayant grossi rapidement, s'ulcérait en surface, donnant naissance à une ulcération indurée ; celle-ci, s'étendant de plus en plus, formait un chancre pouvant atteindre plusieurs centimètres de diamètre. Il va de soi que ces volumineux cratères étaient le siège d'une infection secon-

daire qui ne restait certainement pas sans influence sur les ganglions satellites, en l'occurrence les ganglions inguinaux. Quoi qu'il en soit de cette action, la présence de volumineux chancres clitoridiens où fourmillaient les tréponèmes, nous a amené à nous demander si nous ne trouverions pas dans les ganglions inguinaux de la lapine les mêmes formes que nous avons décelées dans les ganglions similaires de lapins mâles. Pour l'établir, nous avons prélevé une série de ganglions inguinaux chez des femelles porteuses de chancres clitoridiens, soit à l'autopsie des animaux morts de maladies intercurrentes — les lapines au stade des chancres semblent très sensibles aux maladies infectieuses et plus particulièrement aux infections pulmonaires — soit par ablation chirurgicale.

Le premier ganglion inguinal que nous étudierons ici provient d'une lapine inoculée par voie intraclicitoridienne le 14 octobre 1933 et morte de maladie intercurrente, au stade de chancre, le 18 décembre 1933. Le ganglion prélevé à l'autopsie était gros comme un pois chiche. Sa structure histologique était calquée sur celle des ganglions inguinaux des lapins mâles, dont nous avons donné l'étude détaillée dans un travail antérieur (1934).

A l'examen microscopique, en dehors de très rares tréponèmes et de quelques filaments légèrement ondulés (tels qu'on en voit dans la figure 2 en haut et à droite et en bas et à gauche), les parasites étaient exclusivement représentés par de nombreux filaments longs et moyens, bien visibles encore que faiblement colorés, tous parsemés de granulations (voir fig. 2), tantôt d'une grande régularité dans la forme et dans la disposition, tantôt d'une régularité moins apparente. Certains filaments étant particulièrement imprégnés par le nitrate d'argent au niveau de l'une de leurs extrémités, celle-ci apparaissait fortement colorée en noir, l'autre extrémité, représentée par un chapelet de grains, étant beaucoup moins facile à voir. A noter que les parasites étaient disposés librement entre les cellules lymphatiques, isolément ou groupés en petits amas, sans qu'on puisse parler de disposition homogène. En effet, si dans un segment de la périphérie, ils étaient aussi nombreux que les tréponèmes dans un syphilome, dans le reste de cette péri-

phérie et dans le centre du ganglion, ils étaient rares et parfois manquaient totalement.

Le deuxième ganglion inguinal étudié provient d'une lapine

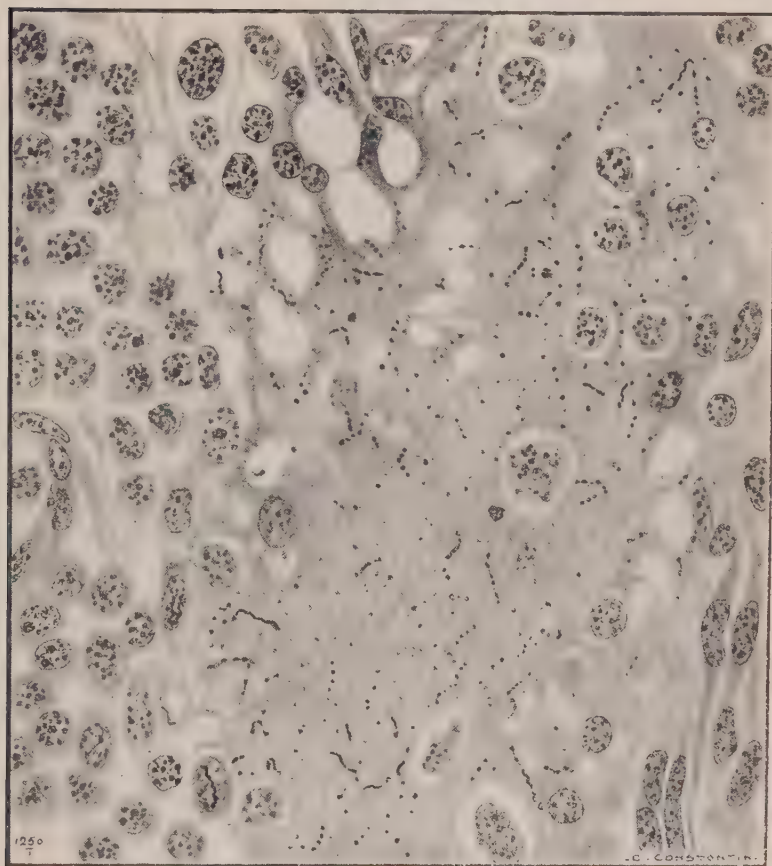


Fig. 3. — Pièce n° 839. Ganglion inguinal de la lapine A99 inoculée par voie intracuticulaire, prélevé par opération au stade du chancre. L'examen sur fond noir d'une gouttelette de suc retiré par ponction de l'organe a permis de déceler des tréponèmes typiques. Sinus lymphatique renfermant des cellules lymphatiques et de nombreux parasites filamenteux et quelques tréponèmes plus ou moins typiques. En bas et à gauche, un tréponème intracellulaire.

inoculée le 14 octobre 1935. Prélevé par opération le 17 janvier 1936, au stade de chancre, il était gros, de consistance

ferme, turgescents. Avant la fixation, il a été ponctionné au moyen d'une micro-pipette et le suc retiré a été utilisé pour un examen sur fond noir qui, après un quart d'heure de recherches, a permis de trouver deux spirochètes, parfaitement mobiles et en tous points semblables à ceux que l'on retire des lésions primaires.

L'examen sur coupes histologiques de ce ganglion, a, là aussi, montré la présence de quelques tréponèmes typiques à côté de nombreuses formes filamenteuses. La figure 3 représente les parasites tels que nous les avons observés : en haut, un tréponème typique, sauf en ce qui concerne sa coloration qui est irrégulière ; en bas et à gauche, un tréponème extracellulaire à tours de spire aplatis et un autre plus typique, enfermé dans une cellule lymphatique ; enfin, en bas et à droite, une forme moitié spiralée, moitié filamenteuse. Tous les autres parasites visibles sont des formes filamenteuses longues ou courtes, droites ou incurvées, parfois légèrement ondulées, couvertes de granulations plus ou moins fines et plus ou moins régulièrement disposées. Les filaments courts, en virgule, sont beaucoup plus nombreux dans ce ganglion que dans le précédent qui contenait presque exclusivement des formes longues.

Par ailleurs, l'examen de la figure 3 montre que les parasites se trouvent dans un lac lymphatique à côté de cellules lymphatiques dont la présence marque le processus inflammatoire qui se déroule dans ce ganglion. Contrairement à ce que nous avons vu dans le cas précédent, où les parasites étaient disséminés entre les cellules lymphatiques, ici nous les avons trouvés surtout à l'intérieur des vaisseaux lymphatiques, aussi bien de la zone marginale que de la région centrale de l'organe. Entre les cellules lymphatiques, ils étaient nettement moins nombreux.

Un troisième ganglion inguinal a été prélevé à l'autopsie d'un lapin mâle, inoculé par voie intratesticulaire le 9 mai 1936 et sacrifié au stade des syphilomes le 11 juillet 1936 (pièce 939).

Comme le montre la figure 4, il contenait des formes tréponémiques et des formes filamenteuses : les premières, par-

ticulièrement bien colorées, ne différant en rien de celles que l'on trouve dans les syphilomes, les formes filamenteuses étant semblables à celles que nous avons décrites dans les ganglions inguinaux étudiés ci-dessus. Comme chez la lapine précédente, les parasites sont disposés dans une flaque de

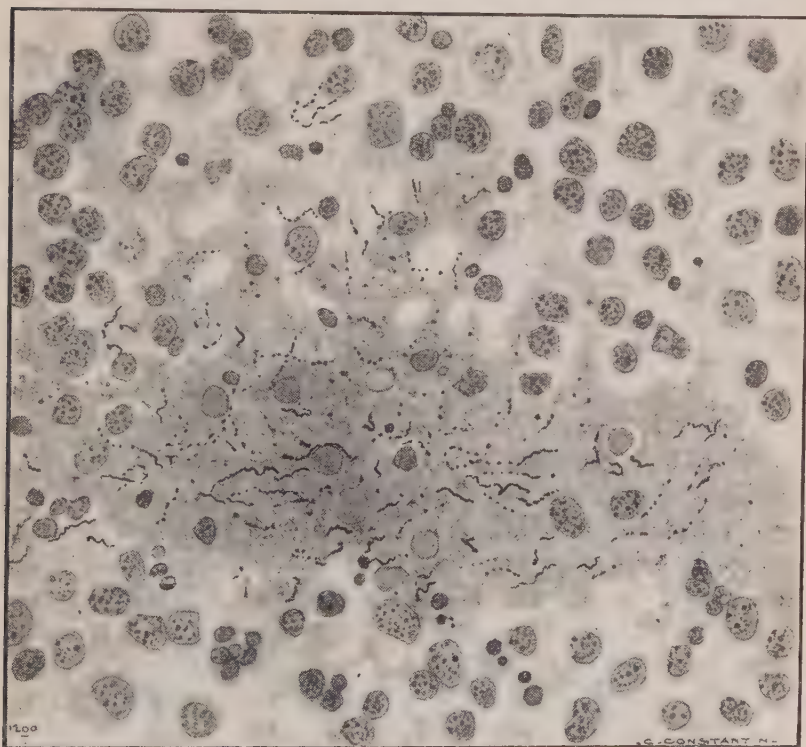


FIG. 4. — Pièce n° 939. Ganglion inguinal du lapin 58 sacrifié au stade de syphilomes. Lac lymphatique dans lequel on aperçoit d'assez nombreux tréponèmes typiques et de nombreux filaments granulaires longs, moyens et courts, tous extracellulaires.

lymphe coagulée. De l'examen de la figure 4, on pourrait conclure que, dans le ganglion en question, les spirochètes sont presque aussi nombreux que les formes filamenteuses. Il n'en est rien. En réalité, les spirochètes typiques ne sont en nombre important qu'en ce point précis représenté par la figure 4. Partout ailleurs, qu'il s'agisse de parasites disposés dans des

flaques de lymphé ou disséminés entre les cellules, on ne trouve que des formes filamenteuses plus ou moins bien colorées.

Un quatrième ganglion inguinal, gros comme un haricot, a été prélevé à l'autopsie d'un lapin mâle, inoculé par voie intratesticulaire le 18 février 1937 et sacrifié au stade des syphilomes le 26 avril 1937 (pièce 1002) ; un autre ganglion, de même volume, existait du côté opposé.

Sur la figure 5, qui représente le virus syphilitique tel qu'on le trouvait dans la première de ces deux adénopathies, on est frappé par l'abondance des formes filamenteuses voisinant avec de rares tréponèmes plus ou moins typiques. Ces filaments, assez faiblement colorés, encore que très nettement visibles, sont également moins granulaires que ceux que nous avons observés dans les autres ganglions inguinaux. A noter dans la zone marginale du même ganglion, la présence de quelques tréponèmes typiques bien imprégnés par l'argent.

Le ganglion du côté opposé est abondamment criblé de lacunes lymphatiques ; certaines de celles-ci renferment de nombreux filaments granulaires longs et courts, en tous points semblables à ceux que nous avons trouvés dans le ganglion poplité prélevé trois heures après l'inoculation de l'animal par voie intratesticulaire et que représente la figure 6. Malgré l'examen de nombreuses coupes, nous n'avons pas trouvé dans ce ganglion un seul tréponème un tant soit peu typique.

Le cinquième et dernier ganglion inguinal étudié provient d'un lapin sacrifié au stade des syphilomes (pièce 1016). Nous mentionnerons seulement la présence aussi bien dans le parenchyme de cet organe que dans la capsule fibreuse qui l'entoure de spirochètes typiques isolés ou groupés en petits amas ; dans ces derniers on voit habituellement un ou plusieurs spirochètes à peu près typiques entourés d'un nombre variable de formes filamenteuses. Pour le reste, nos observations sont analogues à celles faites dans les quatre ganglions précédemment étudiés.

En résumé, l'étude des ganglions inguinaux provenant de lapins des deux sexes et prélevés respectivement au stade des chancres ou des syphilomes montre que ces ganglions renferment un très grand nombre de parasites syphilitiques sous forme de rares tréponèmes et de très nombreux filaments.

III. GANGLIONS POPLITÉS. — Ils sont, chez le lapin, un objet de choix pour l'étude des variations morphologiques que subit le tréponème pâle au sein des ganglions lymphatiques. Cela tient, entre autres, à la constance de leur volume, de leur disposition anatomique et de leur virulence ; celle-ci débutant très peu de temps après l'inoculation et, comme Brown et

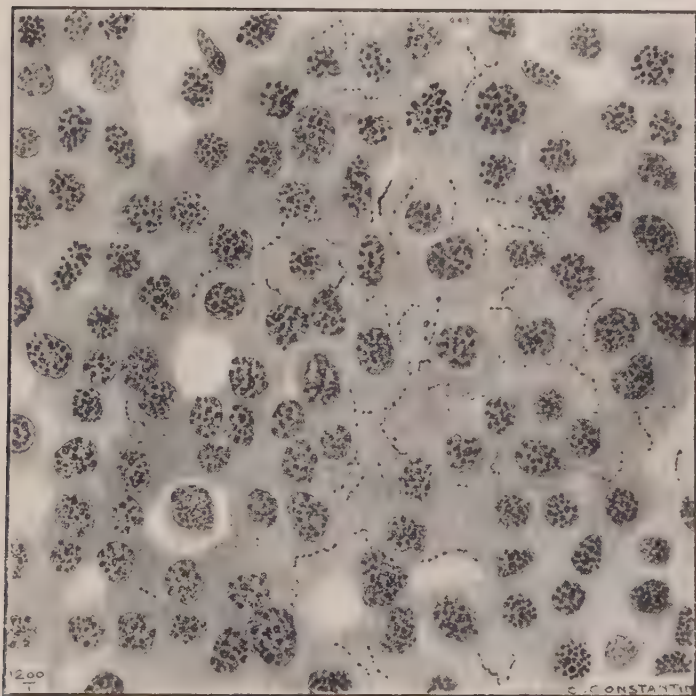


FIG 5. — Pièce n° 1002A. Ganglion inguinal du lapin B67 sacrifié au stade des syphilomes. Nombreux filaments granulaires dont certains présentent de fines ondulations.

Pearce (1922) l'ont établi, persistant jusqu'à la mort de l'animal. Malgré l'importance de cette constatation et encore qu'elle soit vieille de plus de quinze ans, l'analyse histologique des ganglions poplités n'a été tentée que par de rares auteurs, sans doute à cause des difficultés auxquelles on se heurte lorsqu'on essaie d'obtenir des ganglions convenablement imprégnés. Personnellement, nous avons fait porter, sur

cette difficile réalisation technique, le meilleur de notre effort et nous avons réussi à obtenir une série de ganglions poplités parfaitement colorés. Nous étudierons successivement des ganglions poplités prélevés les uns quelques heures ou plusieurs semaines après l'inoculation, les autres sur des animaux sacrifiés au stade des syphilomes.

Un premier ganglion (pièce n° 390) a été prélevé trois heures après l'inoculation de l'animal. Il ne présentait du point de vue macroscopique aucune particularité digne d'intérêt.

Histologiquement, on y voyait des images analogues à celles représentées figure 6 : un vaisseau sanguin de la région hilare, entouré de tissu lymphoïde, est partiellement rempli par un caillot sanguin rétracté dont le sérum coagulé occupe un côté, les globules rouges l'autre côté. Dans le sérum, on trouve un grand nombre de parasites sous la forme filamenteuse, les uns longs, les autres courts, droits ou légèrement incurvés ; la plupart ont à peine réduit l'argent et les parasites uniformément et nettement colorés en noir ou en brun foncé manquent. Tous les éléments sont parsemés de granulations : grains extrêmement fins, à peine visibles ou grains plus volumineux et colorés en noir ; on voit également des parasites dont certains segments sont parsemés de granulations alors que d'autres ont une structure homogène ; il en est, au contraire, où des segments sensiblement égaux, colorés en noir sont séparés les uns des autres par des ponts incolores ; parfois, enfin, des grains fins alternent plus ou moins régulièrement avec des segments colorés. Sur la même préparation, on trouve, en outre (fig. 6, en haut), un tréponème typique entouré de filaments, très faiblement coloré, mais néanmoins bien visible ; un autre spirochète, plus court que le précédent, et faiblement coloré, est disposé librement entre les cellules, au voisinage immédiat du vaisseau que représente la figure 6.

Un deuxième ganglion poplité a été prélevé et fixé cinq heures et demie après l'inoculation. Comme le précédent, il ne présentait aucune particularité macroscopique.

Microscopiquement, nous l'avons trouvé infiltré dans sa totalité (centre et périphérie) par les parasites de la syphilis, mais, à l'exception d'un seul tréponème typique et de quelques filaments pourvus, sur toute leur longueur ou seulement au

niveau de certains segments, de très fines ondulations (fig. 7), il n'existait que des formes filamenteuses, les unes très longues, d'autres moyennes, d'autres courtes.

Autre particularité sur laquelle nous insistons parce que

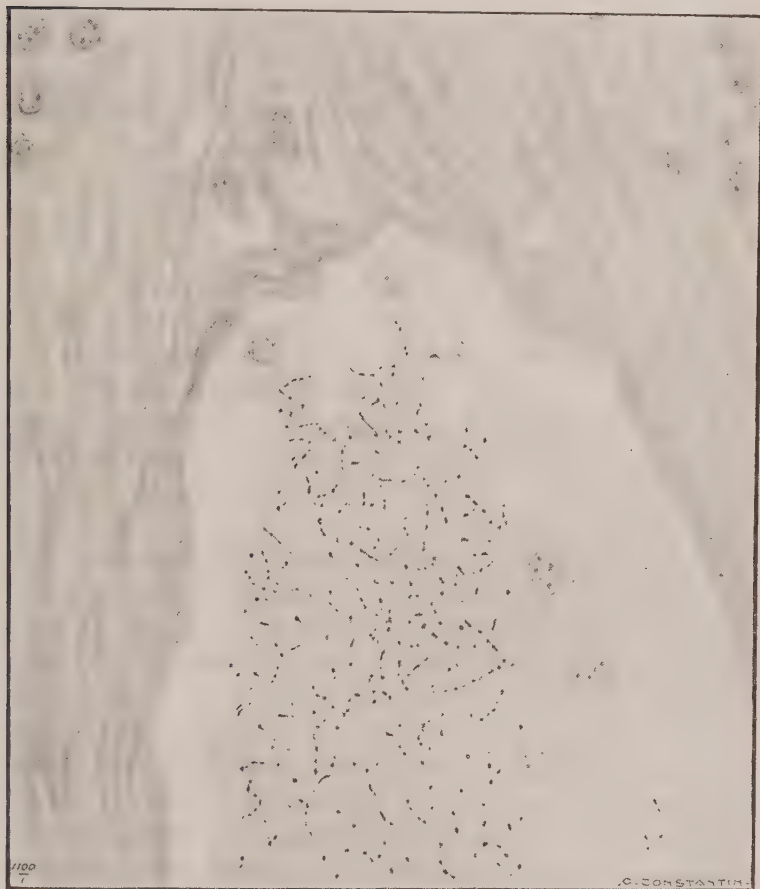


FIG. 6. — Pièce n° 390. Ganglion poplité du lapin B 77 sacrifié trois heures après avoir reçu une injection intratesticulaire d'un broyat de syphilome riche en tréponèmes. Vaisseau sanguin de la région hilare du ganglion dans lequel on aperçoit de très nombreux filaments granulaires. Spirochète typique, faiblement coloré, en haut et à gauche.

nous n'avions pas encore eu l'occasion de l'observer : la disposition des parasites. Ainsi qu'il résulte de l'examen de la

figure 6, dans le ganglion prélevé trois heures après l'inoculation, les filaments sont disposés isolément. Ici, au contraire, les filaments isolés sont rares. Presque tous sont groupés en amas plus ou moins volumineux qui rappellent des microbes agglutinés. Ces amas se trouvent aussi bien dans les vaisseaux sanguins que dans les sinus lymphatiques (fig. 7), autour des vaisseaux et entre les cellules lymphatiques. Ils s'observent avec une netteté particulière dans la lymphe ou dans le sérum coagulé (fig. 7) où ils tranchent vivement sur le fond homogène de couleur jaune clair. Par places, on trouve plusieurs amas dans une même région, ailleurs, ils sont disséminés assez loin les uns des autres. En certains points, ils sont assez bien imprégnés ; en d'autres, ils sont très faiblement colorés et se détachent à peine sur le fond jaune clair de la lymphe. Outre les amas vasculaires, on en trouve d'autres disséminés entre les cellules lymphatiques ; les parasites y sont moins serrés, d'où une structure d'ensemble moins dense qui permet d'étudier les éléments à l'état isolé et de constater que certains parasites présentent de légères ondulations, les autres étant représentés par des formes filamenteuses, granulaires, longues ou courtes (fig. 7).

Si dans les ganglions poplités prélevés vingt-six jours après l'inoculation, la morphologie des parasites est celle que nous avons décrite dans les deux ganglions précédents (très peu de tréponèmes typiques, nombreux filaments groupés en amas), leur disposition est ici tout à fait particulière : on rencontre encore des amas dans les vaisseaux, mais la plupart des parasites se trouvent soit dans les parois vasculaires, soit dans le voisinage de celles-ci, soit — et ce sont de beaucoup les plus nombreux — disséminés entre les cellules lymphatiques du ganglion (fig. 8). Les amas sont composés de filaments granulaires, isolés ou au contraire serrés les uns contre les autres et, dans ce dernier cas, ressemblent parfois à des masses assez fortement imprégnées par l'argent (fig. 8).

Mais ce qui fait l'intérêt particulier de ce ganglion, c'est qu'on y voit, et toujours sous la forme filamenteuse, un grand nombre de parasites intra-cellulaires. Certaines cellules lymphatiques en contiennent un ou plusieurs parfaitement distincts ; dans la plupart, les micro-organismes se trouvent en

très grand nombre. On voit même des cellules qui en sont littéralement bourrées (3).

Nous en terminerons avec les ganglions poplités, en étu-



FIG. 7. — Pièce n° 1006. Ganglion poplité du lapin B2 prélevé cinq heures et demie après injection dans les testicules d'une suspension de syphilome riche en tréponèmes. Réseau de sinus lymphatiques de la région hilaire du ganglion dans lesquels on aperçoit des parasites syphilitiques groupés en amas rappelant étrangement des microbes agglutinés. Quelques rares parasites sont vaguement onduleux, tous les autres se présentent sous formes de filaments granulaires.

(3) Dans ce travail, nous n'insisterons pas davantage sur ce point ; nous nous contenterons de rappeler que nous avons étudié, dans un travail antérieur (1934), la disposition intra-cellulaire des parasites syphi-

diant les ganglions de deux lapins sacrifiés au stade des syphilomes.

Microscopiquement, ceux du premier animal, quoique de

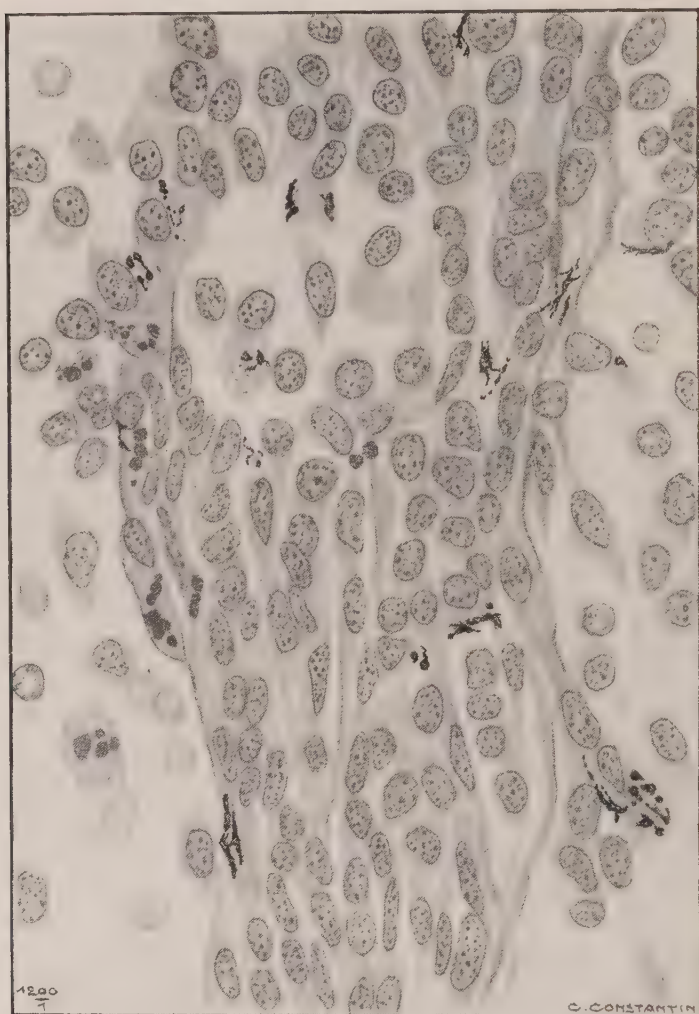


FIG. 8. — Pièce n° 1008. Ganglion poplité du lapin B46, sacrifié vingt-six jours, après avoir reçu une injection intratesticulaire d'un broyat de syphilome riche en tréponèmes. Formes filamenteuses groupées en amas plus ou moins serrés. Présence de formes en boucle les unes extra-, les autres intracellulaires.

litiques et montré que le virus syphilitique est un virus cytotrope capable de s'introduire à l'intérieur de certaines cellules.

faible volume (un demi-ganglion normal), ont été trouvés farcis de parasites : rares tréponèmes et nombreux filaments classiques parmi lesquels on distinguait des formes moyennes et courtes. Certains tréponèmes ressemblaient à ceux que l'on voit habituellement dans les syphilomes, mais la plupart étaient beaucoup plus fins, moins longs, et très faiblement colorés.

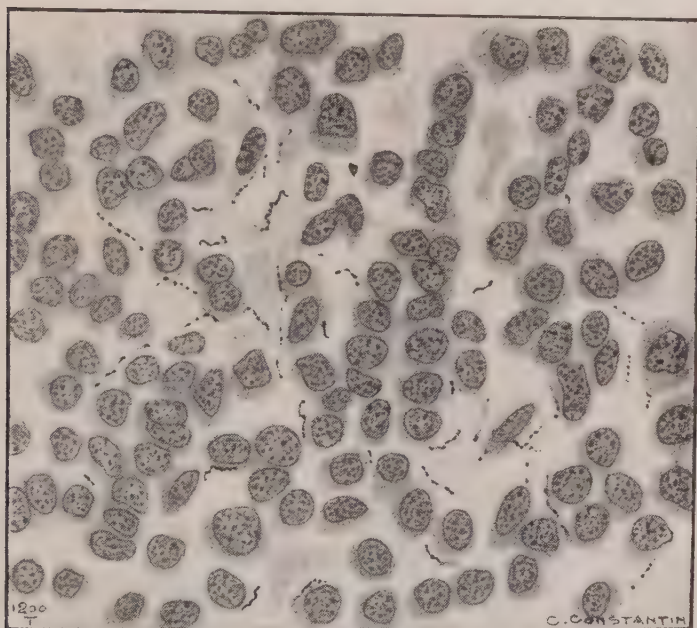


FIG. 9. — Pièce n° 998B. Ganglion poplité du lapin B57, sacrifié au stade des syphilomes. Quelques formes tréponémiques plus ou moins typiques. Nombreux filaments granulaires disséminés entre les cellules lymphatiques. En haut et au milieu de la figure, une forme en boucle. En bas, forme granulaire intracellulaire.

Quelques-uns présentaient des tours de spire aplatis ; d'autres n'étaient spiralés que sur une partie de leur longueur, le reste étant détendu, filamenteux, parfois granulaire (fig. 9) ; chez d'autres encore, les extrémités apparaissaient renflées et colorées en noir, le centre étant d'un calibre normal et coloré en brun clair. Enfin, on pouvait déceler un certain nombre de spirochètes intra-cellulaires, très fins et très faiblement colorés.

Comme dans les autres ganglions que nous avons étudiés,

les filaments étaient ici beaucoup plus nombreux que les spirochètes. Les formes longues, relativement rares, avaient une structure homogène ou granulaire, suivant qu'elles étaient fortement imprégnées et colorées en noir ou que, au contraire, elles avaient à peine réduit le nitrate d'argent. Le plus grand nombre des parasites étaient représentés par des filaments moyens et courts, tantôt assez gros, bien impré-

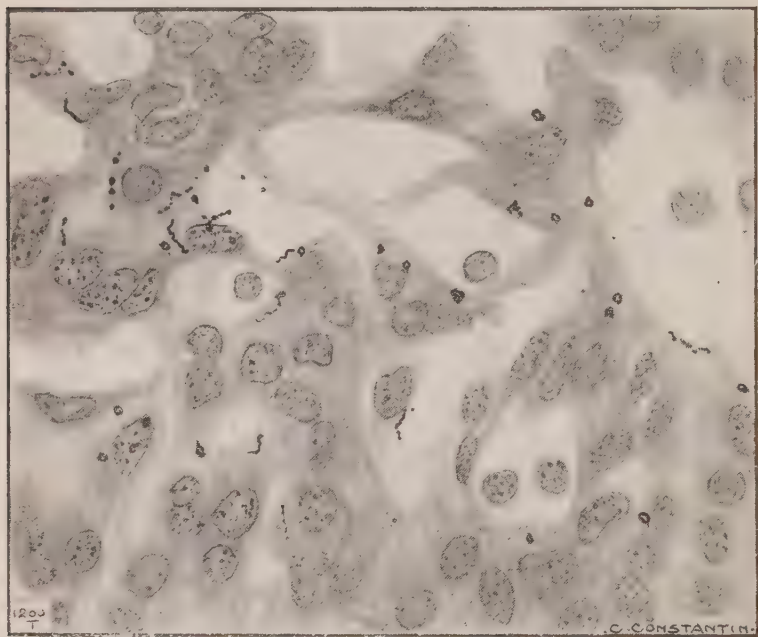


FIG. 10. — Même pièce que la précédente. Un tréponème typique en haut et à gauche; un autre, plus court, à droite du précédent. Plusieurs formes granulaires. Nombreuses formes en boucle, les unes extra-, les autres intracellulaires.

gnés par le sel d'argent, tantôt très fins, faiblement colorés et habituellement granulaires. Parmi les filaments courts, ceux à extrémités effilées ressemblaient à de très fins bâtonnets, ceux dont une seule extrémité portait un léger renflement, rappelaient de fines virgules. Nous avons également observé des filaments composés d'un segment fin, coloré en brun clair, parfois granulaire, alors que le reste du parasite,

fortement imprégné et coloré en noir, était de calibre plus fort que celui du segment fin.

Enfin, dans ce ganglion, particulièrement bien imprégné, nous avons trouvé des parasites syphilitiques sous une forme que nous n'avions pas encore rencontrée dans les ganglions lymphatiques. Il s'agit des formes en boucle, bien connues depuis que Provazek les a décelées dans les chancres humains. La figure 10 montre une zone où ces formes, relativement nombreuses, les unes intra-cellulaires, les autres extra-cellulaires, voisinent avec des formes tréponémiques et filamenteuses (4). En ce qui concerne la disposition topographique des parasites, nous n'avons pas noté de différence entre les spirochètes et les filaments. Inégalement répartis suivant les points, ils occupaient aussi bien le centre que la périphérie du ganglion. Nous n'en avons pas trouvé dans les vaisseaux sanguins ; par contre, nous avons décelé la présence de nombreux filaments dans les parois des vaisseaux et dans le voisinage immédiat de ceux-ci.

Dans les ganglions poplités du second lapin, sacrifié au stade des syphilomes, nous avons fait des constatations analogues à celles que l'étude des ganglions précédents nous a permis de préciser. Nous ne les exposerons donc pas en détail ; nous soulignerons cependant un point important : on trouvait dans ce ganglion des tréponèmes en tous points identiques à ceux que l'on observe dans les syphilomes. Ces parasites, peu nombreux d'ailleurs, semblaient plus fréquents à la périphérie du ganglion, dans le voisinage du sinus marginal, qu'au centre de l'organe. Il en existait également quelques-uns dans la capsule fibreuse périganglionnaire.

#### DISCUSSION.

Nos recherches comportent deux chapitres distincts : d'une part, examen de ganglions poplités prélevés quelques heures ou quelques jours après l'inoculation des lapins par voie

(4) Nous nous bornerons ici à signaler l'existence de ces formes en boucle dans les ganglions lymphatiques de lapins syphilités, nous réservant de revenir sur cette question dans une autre étude.

intra-testiculaire et au moyen d'une suspension préparée avec des syphilomes riches en tréponèmes ; d'autre part, examen de ganglions inguinaux, iliaques et poplités prélevés sur des lapins sacrifiés au stade des syphilomes.

L'examen des ganglions poplités prélevés peu de temps après l'inoculation par voie intra-testiculaire offre un très grand intérêt pour l'étude des variations morphologiques du virus syphilitique. En effet, par ce procédé, très simple en ce qui concerne le temps opératoire, mais des plus délicats pour la partie histologique (étant donné la difficulté d'obtenir des pièces convenablement imprégnées et des coupes démonstratives), on peut, à volonté, provoquer et étudier la transformation des spirochètes syphilitiques en formes filamenteuses.

Celle-ci s'effectue avec une extraordinaire rapidité, preuve qu'il s'agit d'un processus intimement lié à l'évolution du parasite et non à des phénomènes dégénératifs comme on pourrait être tenté de l'admettre, étant donné que des formes filamenteuses ont été décelées non seulement dans les ganglions lymphatiques du lapin, mais aussi dans les lésions de la syphilis tertiaire chez l'homme (Manouelian, 1935).

La constance et la rapidité de la transformation morphologique du virus syphilitique, dans les ganglions lymphatiques du lapin, ne sont pas les seuls arguments qui plaident en faveur de la nature évolutive de la forme filamenteuse. La précocité et l'intensité de la virulence de ces organes en sont d'autres et tout aussi importants. Il est, en effet, difficile d'admettre que des ganglions remplis de formes filamenteuses et pauvres en tréponèmes (cas de ceux que nous avons eu l'occasion d'examiner) puissent être aussi virulents si les formes filamenteuses ne sont que des formes involutives, c'est-à-dire des parasites diminués dans leur vitalité.

L'intensité de la virulence des ganglions lymphatiques du lapin est une constatation intéressante dont plusieurs expérimentateurs ont essayé de préciser la cause. Comme nous avons déjà eu l'occasion de le mentionner, les uns l'attribuent aux spirochètes qu'ils ont décelés dans les ganglions, les autres aux formes non spiralées qu'ils ont réussi à y mettre en évidence. Mais, dans les deux cas, il faudrait encore déterminer

si la virulence des ganglions est fonction des propriétés biologiques particulières du virus syphilitique ou, au contraire, du nombre des spirochètes qu'héberge le système lymphatique.

Ceux qui essaient d'expliquer la virulence des ganglions par la présence des tréponèmes sont fatalement amenés, étant donné le faible nombre de ces parasites, à leur attribuer une virulence particulièrement grande, celle-ci étant à l'origine de l'extrême pouvoir infectieux des ganglions lymphatiques du lapin syphilitisé. Il resterait à en faire la preuve et, pour cela, à démontrer que l'apparition, presque infaillible, de syphilomes à la suite de l'inoculation aux animaux neufs de tissu ganglionnaire est bien due à l'action *de ces seuls tréponèmes* et non à la présence dans le tissu lymphatique de parasites non spiralés.

En ce qui concerne l'existence des formes non tréponémiques, nos expériences antérieures (1934) établissent, et nos recherches actuelles confirment, que les ganglions lymphatiques sont parasités par des formes filamenteuses du virus syphilitique, morphologiquement tout à fait distinctes des formes spirochéliennes classiques. C'est à ces formes que nous attribuons la virulence du système ganglionnaire, sans pouvoir l'affirmer d'une façon péremptoire, car, jusqu'à présent, nous ne disposons pas de matériel virulent ne renfermant, sans conteste, que des formes filamenteuses.

Par ailleurs, l'examen des dessins qui illustrent notre travail et où ne figurent cependant que des formes extra-cellulaires, permet de se faire une idée du nombre des parasites syphilitiques que l'on introduit dans l'organisme du lapin lorsqu'on l'inocule avec un fragment de tissu ganglionnaire. Et quand, en plus, on se rappelle que d'une part un très grand nombre de cellules lymphatiques renferment un ou plusieurs parasites et que certaines même en sont littéralement farcies. et que, d'autre part, on trouve le virus syphilitique non seulement dans les parois vasculaires, mais encore entre les fibres des cloisons conjonctives et même dans la capsule fibreuse qui entoure le ganglion, on en arrive à adopter la dernière des deux hypothèses envisagées et à penser que le nombre des parasites qu'héberge le tissu ganglionnaire est suffisamment grand pour expliquer sa virulence.

On pourrait objecter que la forme filamenteuse du virus syphilitique n'est qu'une forme passagère, prise par le virus syphilitique pendant l'envahissement du nouvel organisme ou, même, créée artificiellement par l'imprégnation au moyen de sels métalliques.

L'objection ne tient pas, si l'on considère que, dans les ganglions lymphatiques poplités, inguinaux ou iliaques prélevés sur des lapins aux stades ultérieurs de l'évolution de l'infection syphilitique — des syphilomes par exemple — les formes filamenteuses, qu'il est alors difficile de considérer comme passagères, existent aussi en grand nombre. Sans doute, nous avons, dans ces ganglions, trouvé également quelques spirochètes plus ou moins typiques (ganglion poplité du lapin B 57, n° 998) ou identiques à ceux que l'on voit dans les syphilomes [ganglions iliaques du lapin 94 (n° 950), ganglions inguinaux du lapin B 67 (n° 1.002), ganglions inguinaux, iliaques, poplités et mésentériques du lapin B 39 (n° 1.016)] ; il n'en reste pas moins que les tréponèmes y sont rares et que leur nombre est insignifiant à côté de celui des formes filamenteuses.

Peut-on alors admettre que les formes filamenteuses ne sont que des tréponèmes très fins, à tours de spire masqués par le vernis argentique ? Pas davantage, car nous pouvons affirmer que les formes filamenteuses sont rarement recouvertes d'une couche d'argent suffisante pour les faire paraître colorées en noir foncé ; la plupart n'ont réduit en effet qu'une très mince couche de métal à laquelle ils doivent leur coloration brun clair, mais qui ne serait certainement pas assez épaisse pour masquer les tours de spire des parasites, si ceux-ci en étaient pourvus.

Au cours de nos recherches, deux particularités nous ont frappé qui méritent d'être discutées : 1° les variations du nombre et 2° le polymorphisme des parasites (tréponèmes ou filaments) contenus dans les ganglions lymphatiques. Pour avoir une idée des variations du nombre des tréponèmes intraganglionnaires, il suffit de se reporter aux figures 1 et 4 (ganglion iliaque et ganglion inguinal). Dans le ganglion inguinal, existe une zone où les spirochètes, en tous points analogues à ceux qu'on trouve dans les syphilomes, sont en

nombre relativement élevé ; dans le ganglion iliaque, au contraire, les spirochètes, bien colorés en noir ou le plus souvent en brun clair, sont rares et isolés.

Quant au nombre des parasites sous forme filamenteuse, nous pouvons dire que si, dans l'ensemble, celui-ci ne varie guère suivant les ganglions examinés, on trouve, dans un même ganglion, des zones où les parasites filamenteux sont nombreux et d'autres où on ne les décèle que difficilement.

En ce qui concerne l'aspect polymorphe du virus sous sa forme aussi bien tréponémique que filamenteuse, il est dû, avant tout, à des variations de longueur, de calibre et d'affinité pour les sels d'argent. En effet, si dans les ganglions, certains spirochètes et filaments bien colorés en noir ont le calibre et la longueur d'un tréponème classique, d'autres, à peine effleurés par le vernis argentique, sont si faiblement colorés qu'on les voit très difficilement. Ces formes faiblement colorées sont, habituellement, parsemées de granulations ; par ailleurs, elles sont, plus souvent, intracellulaires que disséminées librement entre les cellules. A côté des formes longues, et beaucoup plus nombreuses que celles-ci, on trouve des formes moyennes et courtes, des spirochètes ayant à peine un ou plusieurs tours de spire et des filaments qui ressemblent à de très fins bâtonnets. Les filaments courts, dont une extrémité est légèrement renflée, rappellent la forme d'une virgule.

Tel est, brièvement exposé, l'aspect des parasites syphilitiques observés isolément. Il va de soi que ces formes peuvent se trouver réunies et constituer des amas comme ceux que nous avons décrits dans les ganglions poplités prélevés peu de temps après l'inoculation ou que nous avons étudiés, en 1934, dans les cellules du foie de lapin. Lorsque ces amas sont formés de parasites granulaires, surtout lorsqu'il s'agit de formes filamenteuses, ils ressemblent à première vue à des amas de grains noirs disséminés sans ordre apparent. Mais un examen plus détaillé montre qu'en réalité ces grains font partie intégrante de filaments enchevêtrés.

Après ce que nous venons de dire des aspects multiples du virus syphilitique, on pourrait croire que la morphologie de l'agent causal de l'affection est très complexe. Nos expériences montrent qu'il n'en est rien et qu'en réalité le virus

syphilitique n'a que deux formes possibles : tréponémique et filamenteuse ; toutes celles que nous avons signalées et décrites au cours de cette étude ne sont que des formes de transition entre ces deux pôles évolutifs du virus de la syphilis.

Nous voudrions souligner enfin et tout particulièrement parce qu'il nous paraît d'une grande importance, le fait que *dans tous les ganglions examinés et décrits dans ce travail*, nous avons trouvé, à côté des formes filamenteuses, très nombreuses, un nombre variable, mais toujours très faible, de tréponèmes incontestables. Malgré la rareté des tréponèmes, leur mise en évidence dans les ganglions est infiniment précieuse pour plusieurs raisons :

D'abord elle montre qu'il est possible de déceler les spirochètes dans les ganglions par le procédé histologique que nous avons utilisé, encore qu'il faille des pièces parfaitement imprégnées donc difficiles à obtenir et, en raison de la rareté des éléments à découvrir, un examen attentif, prolongé, portant sur plusieurs coupes.

Ensuite, la présence de tréponèmes typiques au milieu de formes filamenteuses facilite grandement la reconnaissance de la nature syphilitique des parasites non spiralés qui se trouvent dans leur voisinage.

Enfin et surtout, elle permet de concilier l'opinion des unicistes et celle des partisans du polymorphisme du virus syphilitique bien qu'elles semblent s'exclure l'une l'autre. Or, nos préparations montrent qu'il n'en est rien. Nous y voyons, en effet, côte à côte, des spirochètes typiques et des formes filamenteuses caractéristiques. Comme les spirochètes sont rares et les filaments très nombreux, nous nous croyons en droit d'affirmer que la virulence des ganglions lymphatiques des lapins syphilitisés est due avant tout aux formes filamenteuses sans, pour cela, nier la part que peuvent prendre, dans l'infectiosité des ganglions, les rares tréponèmes dont ces organes sont le siège. Ainsi, on peut dire — tenant compte de l'inégalité numérique incontestable des deux formes du virus syphilitique dans les ganglions et, partant, de l'inégalité très vraisemblable de leur influence sur les propriétés biologiques de ces organes, leur virulence notamment — que l'opinion des

unicistes et celle des partisans du polymorphisme du virus syphilitique, loin de s'exclure, se complètent, en réalité, l'une l'autre.

### CONCLUSIONS.

Dans les ganglions lymphatiques des lapins syphilités, le virus syphilitique se trouve sous forme de tréponèmes très rares et de filaments très nombreux. L'agent causal de la syphilis est par conséquent un virus polymorphe comportant deux phases morphologiquement distinctes, une forme tréponémique, passagère, et une forme filamenteuse qui est la forme d'état du virus syphilitique.

### BIBLIOGRAPHIE

- BESSEMANS (A.). Sur la variabilité fonctionnelle de « *treponema pallidum* ». *Bull. Soc. franç. Dermat. et Syphiligr.* 1936, p. 1084-1094.
- BESSEMANS (A.), VAN HÆLST, DE WILDE (C. H.) et JANSSENS (P.). Mise au point de certaines questions de syphilis expérimentale relatives à une technique spéciale d'examen microscopique sur fond noir et à l'hypothèse de l'existence d'une forme invisible du virus syphilitique. *Ces Annales*, **57**, 1936, p. 1-27.
- LEVADITI (C.), SCHOEN (R.) et SANCHIS-BAYARRI (M. V.). Le virus syphilitique comporte-t-il un cycle évolutif dont le *Treponema pallidum* n'est qu'une des phases connues ? *Ces Annales*, **42**, 1928, p. 475-494.
- LEVADITI (C.). Remarques à propos de la réponse de M. Bessemans. *Ces Annales*, **57**, 1936, p. 28-29.
- MANOUELIAN (Y.). Gommès syphilitiques et formes anormales du tréponème. Ultravirus syphilitique. *C. R. Soc. de Biol.*, **104**, 1930, p. 249-251.
- MANOUELIAN (Y.). Syphilis expérimentale. Ganglions lymphatiques. Formes minuscules du *Spirochaeta pallida*. Spirochétogène syphilitique. *Ces Annales*, **55**, 1935, p. 698-708.
- MANOUELIAN (Y.). Syphilis expérimentale. Ganglions lymphatiques. Formes minuscules du *Spirochaeta pallida*. Spirochétogène syphilitique. *C. R. Acad. des Sciences*, **200**, 1935, p. 2122-2124.
- NYKA (W.). Contribution à l'étude des ganglions lymphatiques des lapins syphilitiques. *C. R. Soc. de Biol.*, **114**, 1933, p. 994-997.
- NYKA (W.). A propos de la multiplication du spirochète syphilitique. *C. R. Soc. de Biol.*, **121**, 1936, p. 97-99.

- NYKA (W.). Le virus syphilitique : ses variations morphologiques, sa multiplication et son action pathogène. Ces *Annales*, **53**, 1934, p. 243-281.
- PEARCE (L.) et BROWN (W. H.). A study of the relation of *Treponema pallidum* to lymphoid tissues in experimental syphilis. *J. of exp. Med.*, **35**, 1922, p. 39-62.
- TRUFFI (M.). Sulla rapidità di passaggio del virus sifilitico alle ghiandole linfatiche. *Pathologica*, **110**, 1913, p. 316.
- 

Le Gérant : G. MASSON.